

Aus den Forschungslaboratorien der Schering AG

(Berlin / Bergkamen)

Department Endokrinpharmakologie

Leiter: Professor Dr. F. Neumann

**Tierexperimentelle Untersuchungen
zur Beeinflussung der Hodenfunktion
durch Östrogene und Aromatasehemmer**

Inaugural-Dissertation zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

von

Gunda Leschber / Berlin

1985

Aus den Forschungslaboratorien der Schering AG

(Berlin / Bergkamen)

Department Endokrinpharmakologie

Leiter: Professor Dr. F. Neumann

Tierexperimentelle Untersuchungen

zur Beeinflussung der Hodenfunktion

durch östrogene und Aromatasehemmer

Inaugural-Dissertation zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den medizinischen Fachbereichen

der Freien Universität Berlin

von

Gunda Leschber / Berlin

Referent: Prof. Dr. F. Neumann

Korreferent: Prof. Dr. R. Kaden

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 9. Dezember 1985

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Verzeichnis der Abbildungen	6
Legende der Abbildungen	9
I. Einleitung	10
1. Sexualhormone	10
1.1. Definition und chemische Struktur	10
1.2. Wirkungsmechanismus	10
1.3. Biosynthese der Steroidhormone	14
2. Aromatisierung	16
2.1. Aromatasehemmer	19
3. Regulation der Hormonsekretion	22
3.1. Luteinisierendes Hormon (LH)	24
3.2. Follikelstimulierendes Hormon (FSH)	27
4. Spermatogenese	29
5. Antiandrogene	33
6. Fragestellung	35
II. Material und Methoden	36
1. Tiermaterial und Tierhaltung	36
2. Testsubstanzen	36
2.1. Dosierungen	37
3. Versuchsdurchführung	39
3.1. Behandlung der Tiere	39
3.2. Untersuchte Parameter	39
3.2.1. Organgewichte	39
3.2.2. Hormone	40
3.2.2.1. Serumgewinnung	40

Inhaltsverzeichnis

	Seite
3.2.2.2. Gewinnung des Hodenzytosols	40
3.2.2.3. Hormonbestimmung mittels RIA	41
3.2.2.3.1. LH-Bestimmung im Serum	42
3.2.2.3.2. Östradiol-Bestimmung im Serum	43
3.2.2.3.3. Testosteron-Bestimmung im Hodenzytosol	45
3.2.3. Hodenhistologie	46
3.2.3.1. Fixierung	46
3.2.3.2. Schneiden	46
3.2.3.3. Färben	47
4. Lösungen	48
4.1. Susa-Gemisch	48
4.2. Jod-Jodkali-Lösung	48
4.3. Natriumthiosulfat-Lösung	48
4.4. Hämatoxylin	48
4.5. Eosin	49
4.6. TEMG-Puffer	49
III. Ergebnisse	50
1. Gewichte	50
1.1. Körpergewichte	50
1.2. Organgewichte	50
1.2.1. Hoden	50
1.2.2. Prostata und Samenblase	59
1.2.3. Nebenhoden	69
2. Histologie (Hoden)	75
3. Hormonkonzentrationen	90

Inhaltsverzeichnis

	Seite
3.1. LH	90
3.2. östradiol	95
3.3. Testosteron	97
IV. Diskussion	99
V. Zusammenfassung	118
VI. Summary	121
VII. Literaturverzeichnis	123
VIII. Danksagung	166
IX. Lebenslauf	167

Verzeichnis der Abbildungen

Nr.	Abbildung	Seite
1	Struktur der Sexualhormone	11
2	Biosynthese der Sexualhormone	15
3	Schema der Aromatisierung	17
4	Interaktionen bei der Hormonsekretion	23
5	Wirkung der Gonadotropine am Hoden	25
6	Spermatogenese und Blut-Hoden-Schranke	31
7	Körpergewicht V1	51
8	V2	51
9	V3	52
10	V4	52
11	Hodengewicht V1	54
12	V2	55
13	V3	56
14	V4	57
15	Prostatagewicht V1	60
16	Samenblasengewicht V1	61
17	Prostatagewicht V2	62
18	Samenblasengewicht V2	63
19	Prostatagewicht V3	64
20	Samenblasengewicht V3	65
21	Prostatagewicht V4	66
22	Samenblasengewicht V4	67
23	Nebenhodengewicht V1	70
24	V2	71
25	V3	72

Verzeichnis der Abbildungen

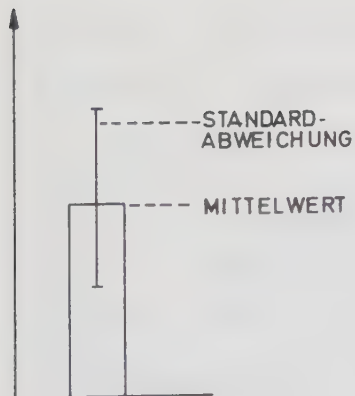
Nr.	Abbildung	Seite
26	Nebenhodengewicht V4	73
27	Hodenhistologie Kontrollgruppe	76
28	1,0 mg Androstendion (V1)	76
29	10,0 mg Androstendion (V1)	77
30	0,3 µg Östradiol (V1)	77
31	5,0 mg Flutamid (V2)	79
32	5,0 mg Flutamid plus 1 mg Androstendion (V2)	79
33	5,0 mg Flutamid plus 10 mg Androstendion (V2)	79
34	3,0 mg 19-OH-Testosteron (V3)	81
35	3,0 mg 19-OH-Testosteron plus 1,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V3)	81
36	1,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V3)	81
37	0,3 mg 19-OH-Testosteron (V4)	84
38	0,3 mg 19-OH-Testosteron plus 1,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V4)	84
39	0,3 mg 19-OH-Testosteron plus 3,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V4)	84
40	1,0 mg 19-OH-Testosteron (V4)	85
41	1,0 mg 19-OH-Testosteron plus 1,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V4)	85
42	1,0 mg 19-OH-Testosteron plus 3,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V4)	85
43	1,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V4)	87
44	3,0 mg 4-Acetoxy-Androstendion (V4)	87
45	Hodenhistologie adulte Kontrollgruppe	89

Verzeichnis der Abbildungen

Nr.	Abbildung	Seite
46	10,0 mg Androstendion (V1a)	89
47	LH-Konzentration V1	91
48	V2	92
49	V3	93
50	V4	94
51	östradiol-Konzentration V1	96
52	Testosteron-Konzentration V2	98

Legende der Abbildungen

K	=	Kontrolle
A DION	=	Androstendion
FLU	=	Flutamid
19OHT	=	19-OH-Testosteron
4 AA	=	4-Acetoxy-Androstendion
E	=	östradiol



Vergrößerung der histologischen Präparate: 25x

I. Einleitung

1. Sexualhormone

1.1 Definition und chemische Struktur

Sexualhormone sind von den Gonaden, also Hoden und Ovarien, gebildete Steroidhormone, die in die männlichen - die Androgene - und die weiblichen Sexualhormone unterschieden werden.

Bei den von den Ovarien produzierten Steroiden unterteilt man weiter in die Follikelhormone - die Östrogene - und die Gelbkörperhormone - die Gestagene (NEUMANN und SCHENCK 1983).

Gemeinsam ist den Steroiden das Cyclopentanoperhydrophenantren-Gerüst, ein Molekül bestehend aus drei Ringen mit sechs Kohlenstoffatomen und einem Ring mit fünf C-Atomen.

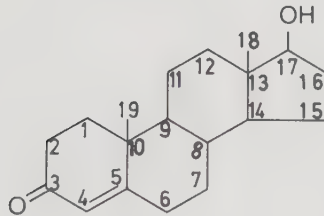
Hinzukommt eine variable Anzahl von Substituenten, so daß die Androgene aus 19 Kohlenstoffatomen, die Östrogene aus 18 und die natürlichen Gestagene aus 21 C-Atomen bestehen (s. Abb 1).

1.2 Wirkungsmechanismus

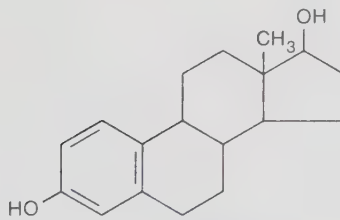
Das von den Gonaden unter dem Einfluß der Gonadotropine (s. 3.1) synthetisierte Hormon wird ins Blut sezerniert, dort zu 98% an ein Transportprotein gekoppelt (MOLL et al. 1983) und so gebunden zu den Zielorganen transportiert.

Das Transportprotein ist das für Sexualhormone spezifische SHBG (Sexualhormon-bindendes Protein) (TINDALL et al. 1978, PETRA et al. 1983), ein von der Leber produziertes Protein.

Testosteron



Östradiol



Progesteron

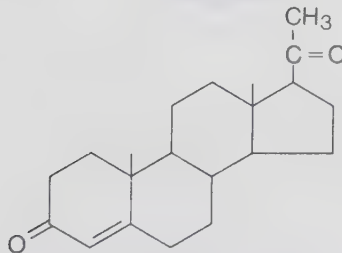


Abb. 1: Struktur der Sexualhormone

An der Zielzelle angelangt, diffundiert das Steroidhormon durch die Zellmembran (BULLOCK und BARDIN 1977). Dort bindet es mit hoher Affinität an ein zytosolisches Rezeptorprotein (HUNG und GIBBONS 1983), das mit der Entstehung des Hormon-Rezeptor-Komplexes eine allosterische Konformationsänderung erfährt (Rezeptoraktivierung). Diese ermöglicht die Penetration des Komplexes in den Zellkern (SCHREIBER und ROSS 1976, LIANG et al. 1977). Im Nukleus wird durch einen Eingriff in die DNA-Synthese (BRUCHOVSKY 1980, SNYDER 1984) und die Transkription die spezifische Hormonwirkung entfaltet.

Bei den Androgenen ist vor der Bindung an das zytosolische Rezeptorprotein ein weiterer Zwischenschritt bekannt: Testosteron wird nach Eintritt in die Zielzelle von der 5α -Reduktase (KRIEG und VOIGT 1976) zu Dihydrotestosteron (DHT) metabolisiert (MARTINI et al. 1974, MAINWARING 1977, PURVIS et al. 1977, RAYNAUD et al. 1977, AHMAD und WARREN 1978, DORRINGTON et al. 1978b, LACROIX et al. 1984, SNYDER 1984). Dieser an der Position 5 im Ring B des Steroidgerüsts reduzierte Metabolit ist nach heutigem Wissensstand (JUNEJA et al. 1977, BRUCHOVSKY 1980, NEUMANN et al. 1980, KARR und MURPHY 1983) die eigentlich wirksame Form des Testosterons. DHT hat eine vielfach stärkere Androgenpotenz (LIANG et al. 1977) und ist in manchen Zielorganen, z.B. Prostata und Samenblase, das allein wirkende Androgen (LIANG et al. 1977, SCHWEICKERT 1980).

Daneben katalysiert die 5α -Reduktase die Bildung weiterer Metabolite, der 5α -Androstandiole (MARTINI et al. 1974, YAMADA et al. 1976, ROSNESS und EIK-NES 1977, PURVIS et al. 1981).

Zielorgane der Androgene sind vor allem die männlichen Geschlechtsorgane, zu deren Ausbildung (DÖHLER und WUTTKE 1974) und Funktion (NEUMANN 1984) ein physiologischer Hormonspiegel notwendig ist.

Im Hoden ist Testosteron für die Spermiogenese (s. 4.) unerlässlich (FRENCH et al. 1974, LACY 1974, PIZZARO et al. 1980, RITZEN 1983, MARSHALL und NIESCHLAG 1984, SNYDER 1984). Allerdings ist für einen normalen Ablauf des Reifungsprozesses die synergistische Wirkung von Testosteron und FSH erforderlich (MEANS 1974, SHERINS 1974, STEINBERGER et al. 1974a, 1974b, LIPSETT 1976, MEANS et al. 1976, 1978, ROSS und LIPSETT 1978, SCHENCK und NEUMANN 1978, GROOTEGOED et al. 1984, MATHER et al. 1984, MARSHALL und NIESCHLAG 1984).

Die Funktionen des Nebenhodens (Spermatozoenreifung) (MANN 1974, PRASAD et al. 1974), der Prostata (MAINWARING 1977, NEUMANN et al. 1978) und der Samenblase sind ebenfalls streng androgenabhängig. Nach Kastration bzw. Behandlung mit Antiandrogenen kommt es bei diesen Organen zu einem Funktionsverlust und schließlich zu Involution (NEUMANN et al. 1980, MARSHALL und NIESCHLAG 1984).

Weitere androgenabhängige Prozesse sind die Ausbildung der sekundären Geschlechtsorgane während der Pubertät sowie Libido und Potenz (NERI 1977, NEUMANN und SCHENCK 1983, SNYDER 1984). Darüberhinaus entfalten die Androgene sexualunspezifische Wirkungen, vor allem einen anabolen Effekt auf den Stoffwechsel (NEUMANN 1977, NEUMANN und SCHENCK 1983).

Gegenüber den beschriebenen Wirkungen der Androgene kommt den Östrogenen beim Mann (und bei der männlichen Ratte) die Aufgabe der physiologischen Modulation zu, mit der die testiku-

läre Antwort auf die zentrale LH-Stimulation reguliert wird (NOZU et al. 1981). Dabei üben die östrogene über vielfache Regulationsmechanismen einen hemmenden Einfluß aus. Zum einen ist eine Hemmung in der Peripherie, also an den Leydig-Zellen bekannt, wo durch östrogene die Androgensynthese gehemmt wird (DUFAU et al. 1978, 1984, DORRINGTON und ARMSTRONG 1979, CIGORRAGA et al. 1980, NOZU et al. 1981), zum anderen greifen östrogene in der Hypophyse in die Sekretion des LH ein (THIEULANT et al. 1984).

1.3. Biosynthese der Steroidhormone

Hauptsyntheseort der Sexualhormone sind die Gonaden. Daneben wird ein kleinerer Teil in den Nebennieren und anderen Organen (z.B. Plazenta) gebildet (NEUMANN und SCHENCK 1983). Beim Mann werden im Hoden bevorzugt Androgene, besonders Testosteron, bei der Frau in den Ovarien hauptsächlich östrogene und Gestagene synthetisiert. Doch werden bei beiden auch geringe Mengen der gegengeschlechtlichen Hormone gebildet. Nach Untersuchungen von ROMMERTS et al. (1982) macht die Östrogenproduktion im Hoden 0,02% gegenüber der Androgenproduktion aus. Die Synthese der Sexualhormone geht vom Cholesterinmolekül aus. Unter der Wirkung der Pregnenolon-Synthetase (side-chain-cleavage-enzyme) (DORRINGTON et al. 1978b) kommt es zur Abspaltung der Seitenkette am C-Atom 21 mit Bildung des ersten Steroidhormons, dem Pregnenolon (STEINBERGER et al. 1974b). Von diesem Hormon, das eine Schlüsselposition (PURVIS et al. 1981, ROMMERTS und BRINCKMANN 1981) einnimmt (s. Abb. 2), erfolgt über multiple, enzymatisch katalysierte Stoffwechsel-

schritte die Synthese der Androgene. Diese sind gleichzeitig Vorläufer der Östrogene. Die Umwandlung der C 19-Steroide in die C 18-Steroide wird von der Aromatase katalysiert.

Ausgehend von der zentralen Fragestellung der Arbeit wird im Folgenden detaillierter auf die Aromatisierung eingegangen.

2. Aromatisierung

Bei der Konversion der Östrogene aus den androgenen Vorstufen (JOHNSTON et al. 1984) vollzieht sich am Ring A des Steroidgerüsts eine Aromatisierung. Dieser komplizierte Reaktionsprozeß wird durch die Aromatase katalysiert, einem Enzymkomplex, der im Zytosol der Zellen, in den Mikrosomen lokalisiert und an das Cytochrom P 450 assoziiert ist (THOMPSON und SIITERI 1974a, SIITERI und THOMPSON 1975, CANICK und RYAN 1976, BRUEGGEMEIER 1982). An diesem Enzymkomplex laufen dabei mehrere Reaktionsschritte (OSAWA 1972) - bis heute sind insgesamt drei bekannt - simultan ab, ohne daß langlebige Zwischenprodukte entstehen (s. Abb. 3).

Nach Annäherung des Substrates (Steroid) an das aktive Zentrum des Enzyms, der Bindung der C1-C2 und C11-C12 Atome und der "Verankerung" durch die am C-Atom 17 hängende Gruppe (Keton oder Alkohol) beginnt die Aromatisierung mit dem ersten Schritt, der Hydroxylierung am C-Atom 19 (Step I) (FISHMAN und GOTO 1981). Nach der 19-R-Hydroxylierung, dem zweiten Reaktionsschritt (Step II) und der Abspaltung der H-Atome an den Positionen C1- β und C2- β , endet die Reaktion in einem dritten Schritt mit der nicht enzymatisch katalysierten (FISHMAN und RAJU 1981) Lösung der C10-C19-Bindung (Step III)

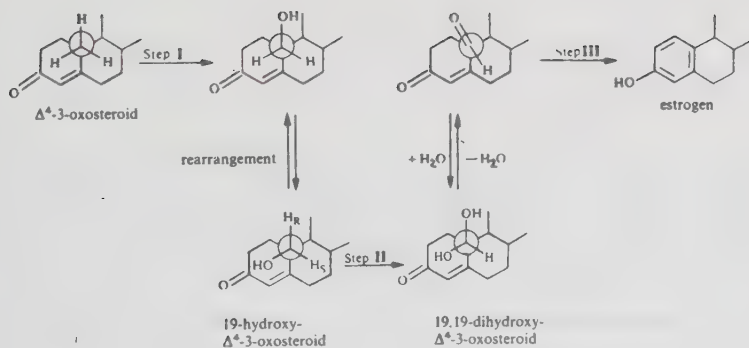


Abb. 3: Schema der Aromatisierung (nach Inano 1982)

(HAHN und FISHMAN 1984).

Mit der Entstehung des Östrogens tritt eine Konfigurationsänderung des Steroidmoleküls ein. Diese macht den Schritt III zu einem irreversiblen Prozeß (OSAWA 1972).

Nach Angaben von BRASELTON et al. (1974), THOMPSON und SIITERI (1974b) und CANICK und RYAN (1976) scheint der erste Schritt gleichzeitig der Schrittmacher des Reaktionsablaufes zu sein. Demgegenüber haben FISHMAN und GOTO (1981) und FISHMAN und RAJU (1981) in neueren Untersuchungen den dritten Schritt der Aromatisierung als den geschwindigkeitsbestimmenden ermittelt. Nachdem LEACH et al. schon 1956 die Existenz der Aromatase im Hoden vermutet hatten und MAC DONALD et al. 1967 erstmalig eine extraglanduläre Aromatisierung beschrieben, wurde das Enzym bis heute in einer großen Anzahl von Organen nachgewiesen: Außer in den Ovarien (BRODIE et al. 1979a, GORE-LANGTON et al. 1980) und der Plazenta (SIITERI und THOMPSON 1975, ABUL-HAJJ 1983) findet man das Enzym u.a. in den Nebennieren (LABHSETWAR 1972, NAGLER et al. 1983), im Hypothalamus (NAFTOLIN et al. 1971, REDDY et al. 1974, DUNAIF et al. 1985), im Fettgewebe (LONGCOPE et al. 1978, BRODIE et al. 1979a, CLELAND et al. 1983), in der Muskulatur (LONGCOPE 1982) sowie in der Leber (EPSTEIN et al. 1966), wo es nach Beobachtungen von LONGCOPE (1982) aber nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Rege Diskussionen wurden über die intratestikuläre Lokalisation des Enzymkomplexes geführt. Nach Untersuchungen von VALLADARES und PAYNE (1979) und NOZU et al. (1981) werden die Leydig-Zellen adulter Ratten als Sitz der Aromatase vermutet, ROMMERTS et al. (1980) und INANO et al. (1982) entdeckten die

enzymatische Aktivität bei infantilen Tieren (vor dem 20. Lebensstag) in isolierten Sertoli-Zellen. Im Laufe der Reifung wechselt also die zelluläre Lokalisation der Aromatase und damit der Ort der intratestikulären Östrogensynthese (POMMERANTZ 1979). Dementsprechend unterscheiden sich in den Entwicklungsphasen die Gonadotropine, die eine Steigerung der Enzymaktivität bewirken. Während bei infantilen Tieren eine Stimulierung durch FSH erreicht wird, ist es bei adulten Ratten LH, das das Enzym anregt.

Beim Mann und auch bei der Frau in der Postmenopause ist die periphere Aromatisierung die Hauptquelle der Östrogene (GRODIN et al. 1973, HEMSELL et al. 1974, JUDD et al. 1982, LONGCOPE 1982).

In Untersuchungen von OSAWA (1972) und LONGCOPE (1982) konnte nachgewiesen werden, daß Androstendion kinetisch ein vielfach besseres Substrat für die Aromatase ist als Testosteron.

2.1. Aromatasehemmer

1973 beschrieben SCHWARZEL et al. den ersten Aromatasehemmer. Seither hat eine Vielzahl von Arbeitsgruppen Substanzen angegeben, die in der Lage sind, das Enzym zu blockieren:

- 4-Acetoxy-androstendion (BRODIE et al. 1977, 1978, 1979b, 1981, BRODIE und LONGCOPE 1980, BRODIE 1982);
- 4-Hydroxy-androstendion (BRODIE und LONGCOPE 1980, BRODIE et al. 1981, 1983, BRODIE 1982, 1985, ABUL-HAJJ 1983, DALTERIO et al. 1983, SANTNER et al. 1984);
- 1,4,6-Androstatriendion (SCHWARZEL et al. 1973, BRODIE et al. 1979a, 1982, BRODIE 1982);

- Androsten-3,6,17-trion (BRODIE et al. 1979a, DONALDSON et al. 1981);
- Δ^1 -Testolacton (SEGALOFF et al. 1962, BARONE et al. 1979, VIGERSKY und GLASS 1981, JUDD et al. 1982, NAGLER et al. 1983, SANTNER et al. 1984, DUNAIF et al. 1985);
- Aminogluthetimid (SANTEN et al. 1978, 1981, SAMOJLIK et al. 1980, SANTNER et al. 1984);
- 16 α -Bromandrogene (BELLIND et al. 1976, NUMAZAWA und OSAWA 1981);
- 10 β -Propynyl-substituierte Derivate (COVEY et al. 1981, MARCOTTE und ROBINSON 1981, JOHNSTON et al. 1984).

Nach heutigem Kenntnisstand handelt es sich meist um eine kompetitive Hemmung des Enzyms (BRODIE 1982), d.h. der Aromatasehemmer und das eigentliche Substrat konkurrieren um die Reaktionsstelle am Enzymkomplex, den sog. "active site". Bei den so wirkenden Substanzen handelt es sich um Substratanaloga, Stoffe mit hoher sterischer Molekülähnlichkeit, die aber nicht aromatisierbar sind. Bei ausreichender Konzentration führen sie zu einer Verdrängung des eigentlichen Substrates von der Reaktionsstelle und hemmen somit die Aromatisierung. Nach Untersuchungen von INANO et al. (1982) erfolgt der Angriff im Schritt II oder III der Aromatisierung. Kompetitive Aromatasehemmer sind z.B. 4-Acetoxy-androsterdion, 4-Hydroxy-androstendion, 1,4,6-Androstatriendion und 10 β -Propynyl-substituierte Derivate (COVEY et al. 1981).

Für Aminogluthetimid geben THOMPSON und SIITERI (1974) eine kompetitive Bindung am Cytochrom P 450, also entfernt von der eigentlichen Reaktionsstelle, an.

BRODIE beschrieb 1982 sog. "suicide inhibitors". Diese Stoffe reagieren mit der Aromatase und werden dabei zu einem reaktiven Zwischenprodukt konvertiert. Dieses sog. "reactive intermediate" führt dann über eine kovalente Bindung an der aktiven Seite des Enzymkomplexes zu einem Aktivitätsverlust, der irreversibel (BRODIE 1983) und langanhaltend ist.

Für eine Anzahl von Aromatasehemmern sind kombinierte Wirkmechanismen vermutet und durch Studien belegt worden: BRODIE et al. (1981, 1983) fanden, daß bei 4-Acetoxy-androstendion, 4-Hydroxy-androstendion und 1,4,6-Androstatriendion neben dem rein kompetitiven Effekt eine die Aromatase inaktivierende Wirkkomponente beteiligt ist. BELLINO et al. (1976) beschreiben derartige kombinierte Mechanismen für die 16 α -Brom-androgene.

Einige Aromatasehemmer sind bis heute schon in der Therapie beim Menschen eingesetzt worden. So wurden vor allem Δ^4 -Testolacton (SEGALOFF et al. 1962, BARONE et al. 1979, DAO 1982), Aminogluthetimid (SANTEN et al. 1978, 1981, SAMOJLIK et al. 1980) und 4-Hydroxy-androstendion (BRODIE et al. 1977, BRODIE 1985) bei der Behandlung des Mamma-Karzinoms erprobt.

Durch die Blockierung der Aromatisierung können östrogenabhängige Prozesse beeinflußt oder, wie VIGERSKY und GLASS 1981 schilderten, zu hohe Östrogenspiegel z.B. bei Männern gesenkt werden.

3. Regulation der Hormonsekretion

An der Steuerung der Hormonsekretion sind komplexe Regulationsmechanismen beteiligt.

Die zentrale Stellung nimmt die Hypophyse mit der Ausschüttung der Gonadotropine (LH und FSH) ein. Sie steht dabei unter dem regulierenden Einfluß des Hypothalamus (LABRIE et al. 1978, MADHWA RAY et al. 1978), der durch das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) die Aktivität der Hirnanhangsdrüse bestimmt (LACROIX et al. 1984).

Das Releasing-Hormon wird in die Portalgefäße sezerniert und erreicht so die Hypophyse (MARTINI et al. 1974). In der Pars distalis der Drüse lokalisierte Zellen enthalten die Glykoproteine LH und FSH (DADA et al. 1984). Mit der Freisetzung dieser Gonadotropine steuert die Hypophyse direkt die inkretorische und generative Funktion der Gonaden (SMITH und ENGLE 1927, HOOKER 1970, ROSEMBERG et al. 1974). Die dort produzierten Hormone nehmen ihrerseits nun wieder über negative Feedback-Mechanismen Einfluß auf die Hypothalamus-Hypophysenfunktion (JUNEJA et al. 1977, CUNNINGHAM et al. 1978, LABRIE et al. 1978, SWERDLOFF et al. 1978, MARYNICK et al. 1979, HASAN et al. 1983). Einen Überblick gibt Abb. 4.

Bei Ausfall der Gonaden (z.B. nach Kastration) kommt es zu einer massiv gesteigerten Freisetzung von LH und FSH, da die Rückkopplung durch die Steroide fehlt. Dagegen reduziert sich die Ausschüttung auf Minimalwerte, wenn exogen Sexualhormone zugeführt werden.

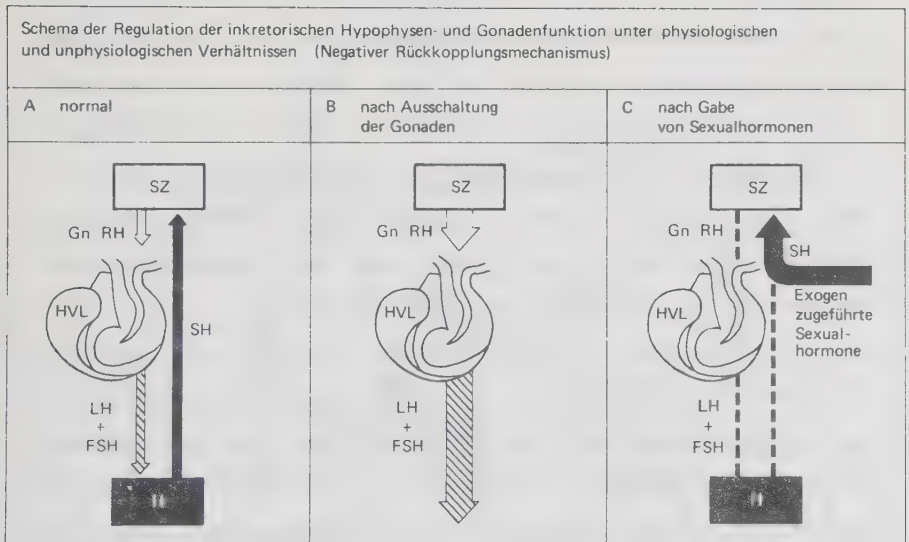


Abb. 4: Interaktionen bei der Hormonsekretion

3.1. Luteinisierendes Hormon (LH)

Das vom Hypophysenvorderlappen unter physiologischen Bedingungen pulsatil (DUFU et al. 1983) freigesetzte Glykoprotein erreicht über den Blutweg sein Zielorgan, die Leydig'schen Zwischenzellen im Hoden (PURVIS und HANSSON 1978, SNYDER 1984) (s. Abb. 5). Sie besitzen auf der Zelloberfläche LH-Rezeptoren (CATT et al. 1974, DESJARDIN et al. 1974, PAYNE und ZIPF 1978, PURVIS et al. 1978) mit hoher Affinität für das Hormon (CIGORRAGA et al. 1978). Nach Untersuchungen von DUFU et al. (1984) an Ratten existieren ca. 20000 Bindungsstellen pro Leydig-Zelle, Glykoproteine mit einem Phospholipidanteil. Nach der Bindung kommt es zur Internalisation des Hormon-Rezeptor-Komplexes und zur Aktivierung der membranständigen, hormonselektiven (BRAUN 1974) Adenylatzyklase.

Es wird Cyclo-AMP gebildet (MENDELSON et al. 1975, DUFU et al. 1977, 1983, HSUEH et al. 1983), eine Substanz, die als sog. "second messenger" auch bei der Wirkung von anderen Proteohormonen bekannt ist (ALBERTS et al. 1983). Dieses c-AMP bindet an intrazelluläre Rezeptoren (DUFU und CATT 1978) und setzt die Kaskade der Proteinphosphorylation in Gang (PURVIS et al. 1981, ROMMERTS et al. 1983).

Durch die Phosphorylierung verschiedener Regulatorproteine wird die Protein- und RNA-Synthese der Zelle gesteuert und damit Einfluß auf die Hormonproduktion, d.h. die Testosteronsynthese der Leydig-Zelle genommen. Das geschieht durch die Phosphorylierung von Regulatorproteinen für Enzyme, die an der Biosynthese des Androgens beteiligt sind (CIGORRAGA et al. 1978, PURVIS et al. 1979a, 1979b, DUFU et al. 1984).

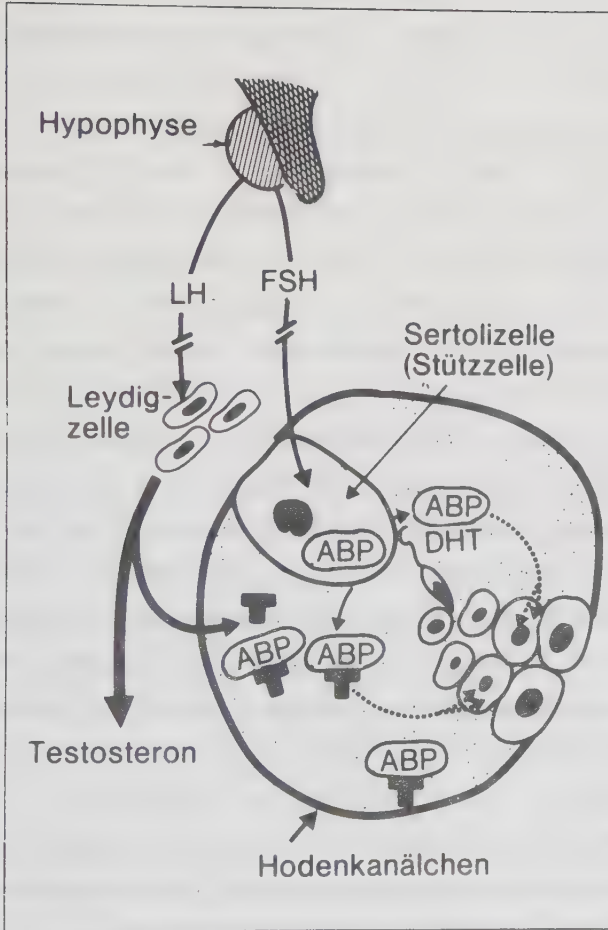


Abb. 5: Wirkung der Gonadotropine am Hoden

Um eine vollständige "Hormonantwort" der Zelle zu erreichen, müssen nur sehr wenige LH-Rezeptoren besetzt sein (CIGORRAGA et al. 1978). Nach Angaben von PURVIS und HANSSON (1978) und HUHTANIEMI et al. (1983) genügt es, wenn 1% der Rezeptoren besetzt sind.

Vor einer Überproduktion der Hormone schützt sich der Körper durch vielfache Regulationsmechanismen. Wie in Versuchen an Ratten in vivo und in vitro (CIGORRAGA et al. 1978, PAYNE und ZIPF 1978, PURVIS et al. 1978, 1979a, SHARPE und McNEILLY 1978, DUFAU et al. 1979, NOZU et al. 1981, ROMMERTS und BRINCKMANN 1981, QUINN und PAYNE 1985) gezeigt wurde, kommt es bei erhöhten LH-Spiegeln zum einen zu einer Desensibilisierung der LH-Rezeptoren und andererseits zu einem Verlust der Bindungsstellen. Dies wird durch die Internalisierung des Hormon-Rezeptor-Komplexes erklärt (HUHTANIEMI et al. 1978, PURVIS und HANSSON 1978, PURVIS et al. 1981). Darüberhinaus greifen aber auch die vom Hoden produzierten Hormone in die Regulation der LH-Rezeptoren ein. So beschrieb DUFAU 1984, daß sowohl im Hoden gebildetes Östrogen als auch ein erhöhter c-AMP-Spiegel in der Leydig-Zelle auf die Synthese der LH-Rezeptoren einwirken.

Andere in der Literatur erwähnte Regelmechanismen sind die Abkopplung des c-AMP vom Rezeptor bzw. eine verminderte Verfügbarkeit von c-AMP durch die Reduzierung der Adenylatcyclase-Aktivität (CONTI et al. 1976, PURVIS et al. 1981).

Neben dem Angriff auf die LH-Rezeptoren wird die Hormonproduktion über zentrale Feedback-Mechanismen gesteuert (vergl. 3. Regulation der Hormonsekretion).

3.2 Follikelstimulierendes Hormon (FSH)

Das zweite in den Zellen der Pars distalis produzierte und gespeicherte gonadotrope Hormon ist das Follikelstimulierende Hormon, FSH genannt. Wie LH erreicht es, wenn es freigesetzt wird, auf dem Blutweg sein Zielorgan (BAKER et al. 1976) (s. Abb. 5).

FSH-Rezeptoren ließen sich am Hoden nur auf den Sertoli-Zellen nachweisen (STEINBERGER et al. 1974, MEANS et al. 1978, WAITES und GLADWELL 1982). Auf den Leydig-Zellen konnten keine Bindungsstellen für dieses Proteohormon gefunden werden (DE KRETZER et al. 1971, MEANS und VAITUKAITES 1972, STEINBERGER et al. 1975, PURVIS und HANSSON 1978, MOGER et al. 1982).

Nach Ankopplung an den zellulären Rezeptor wird der bereits bei LH beschriebene "second messenger", das c-AMP, aktiviert und über multiple Phosphorylierungsschritte die Synthese eines spezifischen Proteins gesteuert (TINDALL et al. 1974, FRITZ et al. 1975, MEANS et al. 1976, 1978, PURVIS et al. 1977, DORRINGTON et al. 1978a). Es handelt sich um das ausschließlich von den Sertoli-Zellen (HANSSON et al. 1975, TINDALL et al. 1978, DORRINGTON und ARMSTRONG 1979) synthetisierte Androgen-bindende Protein (ABP). Dieser zuerst von HANSSON et al. (1973) erwähnte Eiweißkörper konnte bis jetzt nur bei der Ratte isoliert werden. Er ist für den intratestikulären Transport des Testosterons verantwortlich. Mit seiner Hilfe ist es Testosteron oder DHT möglich, die Blut-Hoden-Schranke zu passieren (SETCHELL 1974, SETCHELL et al. 1978).

Das ABP wird von den Sertoli-Zellen in das Tubuluslumen sezerniert (HANSSON et al. 1973, 1975, MUSTO et al. 1978, CHENG et

al. 1984) und bindet aktiv Androgene (TINDALL et al. 1974, PURVIS et al. 1977, WAITES und GLADWELL 1982). Dank dieses Proteins (GRISWOLD et al. 1984) kann die hohe Androgenkonzentration in den Hodenkanälchen aufrecht erhalten werden, die für eine regelrechte Spermatogenese notwendig ist (SHERINS 1974, MATHER et al. 1984). Mit der Flüssigkeit in den Tubuli (FAWCETT 1974) gelangt das ABP-gebundene Androgen in den Nebenhodenkopf (MEANS et al. 1976, PURVIS et al. 1977, DE PHILIP et al. 1982) und steht dort für die weiteren Reifungsvorgänge zur Verfügung.

Während der gesamten Reifung der Samenzellen und ihres Transportes scheint ein "Baden" in einem androgenkonzentrierten Milieu für einen ungestörten Ablauf erforderlich zu sein (PURVIS et al. 1977). Der Faktor, um den das Androgen in den Tubuli gegenüber dem Blut höher konzentriert ist, beträgt bei der Ratte 20 (NEUMANN, persönliche Angabe). Beim Mann ist in der Zwischenzeit ein Konzentrationsunterschied mit dem Faktor 100 gefunden worden (SNYDER 1984). Dies legt die Vermutung nahe, daß trotz des bis jetzt fehlenden Nachweises auch beim Menschen ABP oder ein ähnliches Protein existiert.

4. Spermatogenese

Die aus dem Dottersack stammenden primären Keimzellen wandern während der Embryogenese in die Gonadenanlagen ein (GIER und MARION 1970, SHORT 1978), wo sie als Gonozyten bis zum Beginn der sexuellen Reifung liegenbleiben. Mit Eintritt in die Pubertät um den 16. bis 20. Lebenstag erfolgt bei der Ratte (JOST et al. 1974) die Ausbildung der Blut-Hoden-Schranke durch die Sertoli-Zellen (BURGOS et al. 1970, MEANS et al. 1976, NEAVES 1977, DORRINGTON et al. 1978, ROSS und LIPSETT 1978, WAITES und GLADWELL 1982). Zwischen den Sertoli-Zellen bilden sich "tight junctions" (SETCHELL 1970, FAWCET 1974) aus, die den Tubulus in ein basales und ein lumenales Kompartiment teilen (DYM und CAVIACCHIA 1978, ROSS und LIPSETT 1978, WAITES und GLADWELL 1982) (s. Abb. 6).

Aufgabe der Blut-Hoden-Schranke ist die Schaffung eines Milieus, in dem eine regelrechte Spermato- und Spermiogenese möglich sind (GRISWOLD et al. 1984). Die spezielle Zusammensetzung der Tubulusflüssigkeit mit bestimmten Hormonen, Proteinen und einem spezifischen Elektrolytgehalt (WONG et al. 1978) unterscheidet sich zum Teil erheblich von den Konzentrationen dieser Stoffe im Blut (SETCHELL 1970, 1974, GROOTEBOED et al. 1984). Ein direkter Austausch der Substanzen zwischen den Kompartimenten ist nicht möglich (RITZEN 1983). Teilweise kann die Schranke nur mit Transportproteinen überwunden werden, deren Synthese den Sertoli-Zellen obliegt. Dieses ist z.B. bei den Androgenen der Fall, die an das ABP (s. 3.2) gekoppelt in die Tubulusflüssigkeit gelangen.

Mit der Ausbildung der Blut-Hoden-Schranke beginnen sich die

Gonozyten zu vermehren und in die Spermatogonien umzuwandeln (COUROT et al. 1970, VITALE et al. 1973). Die Spermatogonien bilden im weiteren Leben die Stammzellen für die Spermatogenese. Diese 1876 erstmals von LA VALETTE St.GEORGE beschriebenen Zellen liegen im basalen Kompartiment des Tubulus seminiferus parallel zur Basalmembran und außerhalb der Blut-Hoden-Schranke. Durch mitotische Zellteilungen wird der Pool der Stammzellen konstant gehalten und gleichzeitig entstehen daraus mit den primären Spermatozyten die nächst reiferen Zellformen (COUROT et al. 1970, MARSHALL und NIESCHLAG 1984). Die primären Spermatozyten sind die Zellen, die der Reifungsteilung (Meiose) unterworfen werden (BYSKOW 1978). In der Prophase, dem präleptotenen Stadium, findet eine lebhaft DNA-Synthese in den Zellen statt, an deren Ende eine Zelle mit tetraploidem Chromosomensatz steht (leptotenes Stadium). In der nun folgenden ersten Reifungsteilung werden die sekundären Spermatozyten gebildet, die wieder einen diploiden Satz genetischen Materials enthalten. In der sich rasch anschließenden zweiten Teilung der Meiose entstehen die Spermatiden mit haploidem Chromosomensatz. Bei je zwei neugebildeten Zellen entstehen während der Meiose also vier Gameten aus einem primären Spermatozyten.

Im Verlauf der Spermatogenese verlassen die Zellen das basale Tubuluskompartiment und wandern zwischen zwei Sertoli-Zellen zum Lumen hin (TINDALL et al. 1974, FAWCETT 1975, ROSS und LIPSETT 1978). Dabei halten die reifenden Zellen mit den Versorgungszellen engen Kontakt: Sie werden nahezu vollständig vom Zytoplasma der Sertoli-Zellen umflossen (WAITES und GLADWELL 1982), ohne daß ein Zellkontakt bestünde, der die

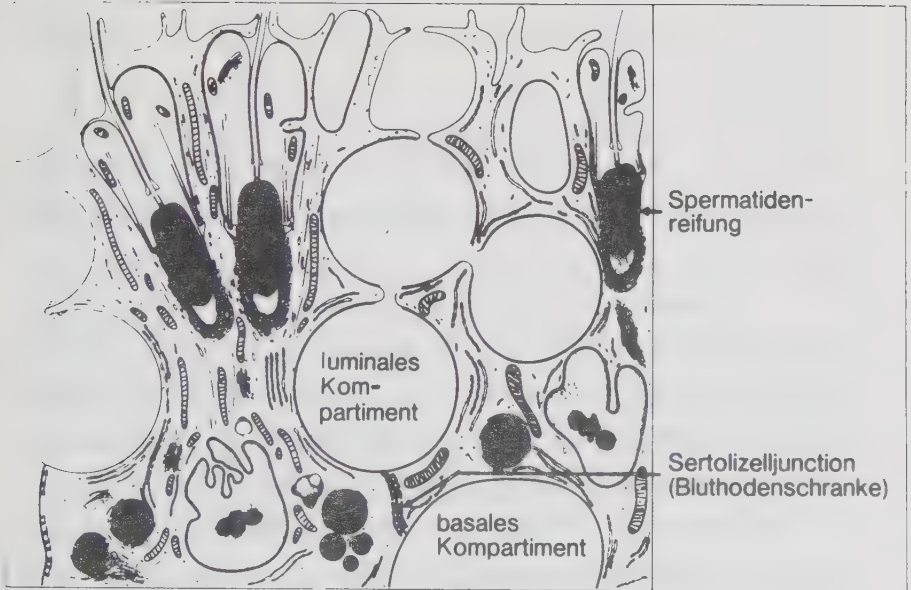


Abb. 6: Spermatogenese und Blut-Hoden-Schranke

Wanderung behindern würde (DYM und CAVIACCHIA 1978, RUSSELL 1980). Durch zytoplasmatische Brücken bleiben die Spermatozyten auch untereinander verbunden (BURGOS et al. 1970).

Die adluminal liegenden Spermatiden durchlaufen nun weitere Stadien der Reifung - die Spermiogenese -, in denen sich die Spermatozoen mit einem elongierten Zellkern, dem Kopf, und einem langen Schwanz formieren. Auch im Stadium der Spermatozoen besteht eine enge Wechselwirkung mit den Sertoli-Zellen.

Die Gameten "tauchen" förmlich in die Zellen ein (s. Abb. 6).

Die endgültige Reifung der Spermatozoen erfolgt nach der Ablösung vom Tubulusepithel und der Wanderung zum Nebenhoden während der Speicherung im Nebenhodenkopf (SETCHELL 1970, WONG et al. 1978).

Die Spermatogenese läuft wellenförmig ab (COURROT et al. 1970). Dabei befinden sich die Zellen eines Tubulusareals immer im gleichen Zyklus. Es werden im Querschnitt eines Hodenkanälchens aber nie Zellen aller Reifungsstadien angetroffen, sondern nur bestimmte Stufen (vergl. Abb. 27).

Für einen ungestörten Ablauf der Spermatogenese, die während des gesamten Lebens kontinuierlich abläuft, sind relativ hohe Androgenspiegel nötig (SETCHELL 1970, SWERDLOFF et al. 1978). Daneben scheint aber für die Initiierung der Spermatogenese auch FSH eine wichtige Rolle zu spielen (MEANS et al. 1974, LIPSETT 1976, GROOTEBOED et al. 1984, MARSHALL und NIESCHLAG 1984).

5. Antiandrogene

Das erste antiandrogen wirksame Steroid, das Cyproteronacetat, wurde 1963 von HAMADA et al. entdeckt. Neben weiteren Steroidkörpern, zum Überwiegenden Teil Modifikationen des Cyproteronacetatmoleküls, wurden seit dieser Zeit eine Reihe nicht-steroidaler Substanzen entwickelt, die in der Lage sind, am Androgenrezeptor zu binden ohne eine nachfolgende Hormonwirkung hervorzurufen. Flutamid ist eine dieser Substanzen, ein sehr potentes Antiandrogen, das 1972 die Arbeitsgruppe von NERI erstmalig vorstellte.

Heute werden die Antiandrogene in zwei Klassen unterschieden: die reinen Antiandrogene und die Antiandrogene mit anderen endokrinen Eigenschaften (NEUMANN und SCHENCK 1974).

Die Substanzen des ersten Typs, zu denen auch das Flutamid gehört, binden kompetitiv an die Androgenrezeptoren (MAINWARING 1977, BRUCHOVSKY 1980). Da anschließend eine Translokation des Rezeptors jedoch nicht erfolgt wird auch der spezifische Hormoneffekt nicht ausgelöst.

Neben einem Angriff an den androgenabhängigen Organen in der Körperperipherie zeigen Antiandrogene im Zentralnervensystem eine Wirkung: Es wird ein Androgenmangel vorgetäuscht (NEUMANN et al. 1977, SCHENCK und NEUMANN 1978b). Nach kurzer Zeit setzen auf der Ebene des Hypothalamus und der Hypophyse gegenregulatorische Prozesse ein (NEUMANN et al. 1980, 1982). Wie SCHACHER 1981 in Untersuchungen an Ratten zeigen konnte, ist bereits 24 Stunden nach Flutamid-Applikation eine vermehrte LH-Sekretion zu beobachten. Bei länger dauernder Behandlung tritt infolge der LH-Stimulation eine Hyperplasie der Leydig-

Zellen auf und der Effekt des Antiandrogens wird durch die stark ansteigende Testosteronproduktion wieder aufgehoben (NEUMANN et al. 1977, 1981, 1982, SCHENCK und NEUMANN 1978b). Studien von NEUMANN et al. (1977) an Ratten zeigten, daß nach 16-wöchiger Behandlung mit Flutamid die Spermatogenese wieder weitgehend normal verläuft.

Zu der zweiten Gruppe, den Antiandrogenen, die zugleich einen antigonadotropen Wirkungsmechanismus haben (HOVATTA und KOSKIMIES 1978, MOLTZ et al. 1978, HASAN et al. 1983), zählt u.a. das Cyproteronacetat (NEUMANN und HAMADA 1964, NEUMANN und VON BERSWORDT-WALLRABE 1966). Bei Substanzen dieser Klasse wird außer der kompetitiven peripheren und zentralen Antagonisierung gleichzeitig der hypothalamisch-hypophysäre Regelkreis beeinflusst (NEUMANN 1966, HAMMERSTEIN 1977, MOLTZ et al. 1978, SCHENCK und NEUMANN 1978b), mit der Folge, daß die Abnahme der LH-Sekretion auch nach langfristiger Behandlung festzustellen ist (BRECKWOLDT 1980). Im Serum sind dann signifikant niedrigere LH- und Testosteronwerte meßbar und die Spermatogenese ist hochgradig gestört (SCHENCK und NEUMANN 1978a, NEUMANN et al. 1982).

Klinische Anwendung finden die Antiandrogene heute in der Behandlung androgenabhängiger Prozesse, wie z.B. dem Prostata-Karzinom (RAYNAUD et al. 1977, LABRIE et al. 1984, KLOSTERHALFEN und BECKER 1984, NERI und KASSEM 1984, SOGANI et al. 1984, TUNN et al. 1984).

6. Fragestellung

1981 veröffentlichten VIGERSKY und GLASS eine Studie, in der sie über die Wirksamkeit des Aromatasehemmers Δ^4 -Testolacton bei infertilen Männern berichteten. Nach einem Behandlungszeitraum von einem Jahr war bei drei Ehefrauen der zehn behandelten Männer eine Schwangerschaft eingetreten und es waren signifikante Änderungen der Serumhormonkonzentrationen festgestellt worden. Neben einem Abfall der Östradiol- und Östronwerte war es zu einem signifikanten Anstieg der Testosteron- und Androstendionkonzentrationen bei diesen Patienten gekommen.

Die Autoren kamen zu dem Schluß, daß sich hieraus ein neues Therapiekonzept ableiten ließe. Mit Hilfe von Aromatasehemmern könnten erhöhte Östrogenspiegel bei Männern mit idiopathischer Oligozoospermie gesenkt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, mit der Ratte ein Tiermodell aufzubauen, das geeignet ist, in weiteren Studien diese These zu überprüfen. Da bekannt ist, daß Östrogene über einen kurzen negativen Feedback-Mechanismus die Funktion der Leydig-Zellen beeinflussen können, scheint die Behandlung mit Aromatasehemmern tatsächlich ein sinnvoller Therapieansatz bei der sog. idiopathischen Oligozoospermie zu sein.

II. Material und Methoden

1. Tiermaterial und Tierhaltung

Männliche Wistar-Khan-Schering SPF-Auszuchttratten dienten als Versuchstiere (n = 6). In allen Versuchen waren die infantilen Tiere zu Behandlungsbeginn 21 bis 23 Tage alt und wogen 45 bis 50 g. Die im ersten Versuch zusätzlich verwendeten 8 bis 9 Wochen alten erwachsenen Tiere waren 240 bis 260 g schwer. Alle Tiere wurden in Dreier-Gruppen in klimatisierten Räumen mit einem 12-stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus gehalten, bei einer Temperatur von $21 \pm 1^\circ\text{C}$ und einer Luftfeuchte von $50 \pm 5\%$. Sie erhielten Standardfutter (Altromin) und Wasser ad libitum.

2. Testsubstanzen

- | | |
|----------------------------|--|
| 1) Androstendion | (4-Androsten-3,17-dion;
ZK-Nr. 5155) |
| 2) Flutamid | (4-Nitro-3-trifluormethyl-iso-
butyranilid; ZK-Nr. 56698) |
| 3) 19-Hydroxy-testosteron | (17 β ,19-Dihydroxy-4-androsten-3-on;
ZK-Nr. 67901) |
| 4) 4-Acetoxy-androstendion | (4-Acetoxyandrosten-3,17-dion;
ZK-Nr. 39660) |
| 5) Östradiol | (17 β -Östradiol; ZK-Nr. 5018) |

Vehikel für Androstendion, Flutamid, 4-Acetoxy-androstendion und Östradiol: Gemisch aus 25 Vol% Benzylbenzoat und 75 Vol% Rizinusöl.

Vehikel für 19-OH-Testosteron: MYRJ-Kristallsuspension.

Die Substanzen wurden für je vier Tage im voraus hergestellt, bei Zimmertemperatur aufbewahrt und täglich vor der Applikation aufgeschüttelt.

2.1. Dosierungen

Versuch	Gruppe	Substanz	Menge (mg)	Appl.vol. (ml)
1	I i/a	Rizinusöl		0,2
	II i/a	Androstendion	0,1	0,2
	III i/a	Androstendion	1,0	0,2
	IV i/a	Androstendion	101	0,2
	V i	östradiol	0,0003	0,2
	V a	östradiol	0,001	0,2
2	I	Rizinusöl		0,2
	II	Androstendion	1,0	0,2
	III	Androstendion	10	0,2
	IV	Flutamid	5	0,2
	V	Androstendion	1,0	0,1
		Flutamid	5	0,1
	VI	Androstendion	10	0,1
		Flutamid	5	0,1

Versuch	Gruppe	Substanz	Menge (mg)	Appl.vol (ml)
3	I	Rizinusöl		0,1
	II	19-OH-Testosteron	3	0,2
	III	19-OH-Testosteron	3	0,2
		4-Acetoxy-androstendion	1	0,1
	IV	4-Acetoxy-androstendion	1	0,1
	V	Östradiol	0,0003	0,1
4	I	Rizinusöl		0,1
	II	19-OH-Testosteron	0,3	0,1
		4-Acetoxy-androstendion	1	0,1
	III	19-OH-Testosteron	0,3	0,1
		4-Acetoxy-androstendion	3	0,1
	IV	19-OH-Testosteron	1	0,1
		4-Acetoxy-androstendion	1	0,1
	V	19-OH-Testosteron	1	0,1
		4-Acetoxy-androstendion	3	0,1
	VI	19-OH-Testosteron	0,3	0,1
	VII	19-OH-Testosteron	1	0,1
	VIII	4-Acetoxy-androstendion	1	0,1
	IX	4-Acetoxy-androstendion	3	0,1

3. Versuchsdurchführung

3.1. Behandlung der Tiere

Die Tiere wurden einen Tag vor Versuchsbeginn randomisiert und aus arbeitstechnischen Gründen in die Untergruppen a) und b) aufgeteilt (Versuch 4: a), b), c)). Der Behandlungsbeginn der Gruppe b) war gegenüber a) um einen Tag verschoben, die Differenz von c) gegenüber a) betrug zwei Tage. Die Behandlungsdauer bei den infantilen Tieren betrug 14 Tage (einschließlich Sonnabend und Sonntag), die der adulten Tiere 28 Tage (inklusive Sonnabend und Sonntag).

Täglich zwischen 9 und 11 Uhr erfolgte die Injektion mit einer kleinlumigen Kanüle subcutan unter das Rückenfell. Bei Applikation mehrerer Testsubstanzen wurde zu erst die Kristallsuspension und nach ca. 10 bis 15 min. die ölige Suspension an etwas versetzter Stelle injiziert.

Am Vormittag des 15. (29.) Tages erfolgte die Tötung der Tiere per Dekapitation, nachdem zuvor das Gewicht bestimmt worden war.

3.2. Untersuchte Parameter

3.2.1. Organgewichte

Die Tiere wurden nach der Dekapitation unverzüglich sezziert und Nebenniere, Prostata, Samenblase, Nebenhoden und Hoden zur Gewichtsbestimmung präpariert, die auf einer Analysenwaage erfolgte. Das Gewicht des linken Hodens, der histochemisch

untersucht wurde, wurde getrennt bestimmt. Der gewogene rechte Hoden wurde in nummerierte Gläschen mit Susa-Gemisch (4.1) für die histologische Untersuchung fixiert. Die restlichen Organe wurden nach dem Wiegen verworfen.

3.2.2. Hormone

3.2.2.1. Serumgewinnung

Sofort nach der Dekapitation wurden die Tiere in ein Kunststoff-Zentrifugengläschen entblutet. Das so gewonnene Blut wurde im Eisbad bis zur Weiterverarbeitung gekühlt. Nach der Gerinnung und 15 min. zentrifugieren mit 3000 U/min. bei 4° C, wurde das Serum in vorher beschriftete Eppendorfgeläße pipettiert, die dann bis zur weiteren Verarbeitung bei -25° C ($\pm 1^\circ\text{C}$) eingefroren wurden.

3.2.2.2. Gewinnung des Hodenzytosols

Jeweils der linke Hoden eines Versuchstieres wurde für die Bestimmung des Testosterongehaltes im Hodenzytosol aufgearbeitet. Dafür wurde das Organgewicht ohne Tunica albuginea bestimmt, die nach Auftauen der eingefrorenen Präparate entfernt wurde. Der Hoden wurde sogleich in ein Glasröhrchen des Homogenisators (Fa. Braun) getan und TEMB-Puffer (4.6) zugeetzt. Die Menge des dabei eingesetzten Puffers entsprach in ml jeweils dem Dreifachen des Organgewichtes in g.

Bei einer Rotorgeschwindigkeit von 400 U/min. wurde der teflonbeschichtete Rotor 10 bis 12 x langsam in dem Glas-

röhrchen auf- und abbewegt, um so eine gute Homogenisierung zu erreichen. Mittels einer Spritze wurden die homogenisierten Präparate in Zentrifugenröhrchen übergeführt und bis zur Weiterverarbeitung wie schon zuvor im Eisbad aufbewahrt.

In einer Sorval-OTD-2 Ultrazentrifuge wurden die Proben 1 h bei 4 °C mit 40000 U/min. (≈ 12000 g) zentrifugiert. Der gewonnene klare Überstand (Zytosol) wurde in Eppendorfgefäße pipettiert und eingefroren.

3.2.2.3. Hormonbestimmung mittels Radioimmunoassay (RIA)

Der RIA ist eine in-vitro-Methode zur quantitativen Bestimmung einer unbekannten Hormonkonzentration. Dabei wird zu einer Serumprobe mit unbekannter Hormonkonzentration eine festgelegte Menge des gleichen, jedoch radioaktiv markierten Hormons, sog. "heiBes Hormon", gegeben. Anschließend fügt man dem Ansatz einen für dieses Hormon spezifischen Antikörper hinzu, in ebenfalls definierter Menge.

Unmarkiertes ("kaltes") und markiertes ("heiBes") Hormon konkurrieren um den Antikörper während der nun ablaufenden Reaktion, es entstehen Hormon-Antikörperkomplexe. Entsprechend ihrer Konzentration im Versuchsansatz bilden sich entweder mehr "heiBe" oder mehr "kalte" Komplexe. Nach Abschluß der Reaktion werden die nicht gebundenen Hormone entfernt, so daß im Versuchsansatz nur noch Hormon-Antikörperkomplexe enthalten sind. Nun wird die Radioaktivität der gebildeten Komplexe bestimmt. Diese ist um so höher, je höher der Anteil "heiBen" Hormons ist, d.h. je niedriger die Konzentration des unmarkierten Hormons in der zu bestimmenden Serumprobe war. Bei

hoher Radioaktivität liegt also im Versuchsansatz wenig "kaltes" Hormon vor und bei der Einstellung des Gleichgewichtes zwischen "heißem" und "kaltem" Hormon am Antikörper können sich viele radioaktive Komplexe bilden.

Voraussetzung für eine exakte Bestimmung mit dem RIA sind ein hochspezifischer Antikörper und Hormone in hochgereinigter Form. Des weiteren müssen die Substanzen, die in festgelegter Menge zugegeben werden, d.h. Antikörper und "heißes" Hormon im Überschuß vorhanden sein. Andernfalls können Verfälschungen der Versuchsergebnisse auftreten, wenn z.B. der Antikörper unspezifisch mit anderen in der Serumprobe vorhandenen Substanzen Verbindungen eingeht und dann nicht mehr für die eigentliche Reaktion zur Verfügung steht oder wenn radioaktiv markiertes Hormon, das in zu geringer Menge vorhanden ist, am Antikörper nicht die Einstellung des Verhältnisses erlaubt, in dem "kaltes" und "heißes" Hormon im Ansatz vorhanden sind. Vor Versuchsbeginn werden mit bekannten Hormonkonzentrationen Standardkurven erstellt. Es werden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt.

3.2.2.3.1. LH-Bestimmung im Serum

Aufgrund der nur geringen Serummenge, die bei den infantilen Tieren gewonnen werden konnte, wurden für die LH-Bestimmung die Doppelproben mit zwei unterschiedlichen Serummenngen bestimmt: 200 µl und 400 µl. Das hatte darüber hinaus den Vorteil, daß man zwei verschiedene Meßbereiche abdeckte:

6,25 - 625 µg/l bei 400 µl und 12,5 - 1250 µg/l bei 200 µl.

Zur Gleichheit der Ansatzvolumina wurden 200 µl Puffer zu den

200 µl Serum pipettiert, bevor den Proben der 1. Antikörper (200 µl) und der Tracer, d.h. radioaktiv markiertes Hormon (200 µl) zugesetzt wurden.

Nach Schütteln wurden die Ansätze 48 h bei Zimmertemperatur inkubiert.

Die gleiche Inkubationszeit wurde nach Zugabe des 2. Antikörpers (200 µl) abgewartet. Dieser bindet die gebildeten Hormon-Antikörperkomplexe. Aufgrund des Größenunterschiedes zwischen den Antikörper-Hormon-Antikörperkomplexen und den freien Hormonmolekülen ist anschließend eine Trennung durch Filtration des Ansatzes möglich.

Nach 20 min. Inkubation bei 3000 U/min. (4°C) wurde der Überstand dekantiert und in einen Ria-Gamma-Zähler gestellt, in dem eine direkte Auswertung über ein RIA-Programm erfolgte.

Standardlösungen: 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 250 µg/ml

(WHO-Reagenz)

Referenzlösungen: 250; 1000 µg/ml (NIAMD)

Tracer : NIAMD-Ratten-LH-1-5 (Amersham)

1. Antikörper : Anti-Ratten-LH (Kanninchen) LH S-4 (NIAMD)

2. Antikörper : Anti-Kanninchen-Gamma-Globulin-Serum (Schaf)
(Schering)

3.2.2.3.2. Östradiol-Bestimmung im Serum

Nach dem Auftauen wurden alle Serumproben 1-2 sec. geschüttelt, bevor 300 µl in jedes Glasröhrchen pipettiert wurden, jeweils für Doppelbestimmungen jeder Probe. Bei den erwachsenen Tieren (Versuch 1) konnten aufgrund der größeren Serum-

menge 400 μ l je Einzelprobe eingesetzt werden.

Nach Zugabe von 2 ml Diethylether (max. 0,01% wasserhaltig) mittels einer Dispenzette und dem Verschließen der Röhrchen mit Gummistopfen, wurden die Proben 15 min. in einem Rotor extrahiert. Nur die Serumproben wurden extrahiert. Im Anschluß an die Extraktion wurden die Proben zur schärferen Zonierung bei 3000 U/min. 2 min. zentrifugiert und sofort danach in ein Ethanol-Trockeneisbad gestellt.

Nach einigen Minuten war die wäßrige Phase (Serum) gefroren und der Überstand, d.h. der östrogenhaltige Ether konnte problemlos in vorbereitete, nummerierte Glasröhrchen dekantiert werden. Anschließend wurde der Ether bei 40°C mit Stickstoff aus den Röhrchen verdampft (15 min.).

Aus arbeitstechnischen Gründen wurden dann erst am nächsten Tag der Antikörper und der Tracer hinzugegeben. Die Proben standen bis dahin abgedeckt im Kühlschrank. Das Pipettiervolumen für Antikörper und Tracer betrug 200 μ l.

Um möglichst alle an der Gefäßwand haftengebliebenen Östrogenmoleküle herunterzuspülen, wurden die Proben anschließend 10-12 sec. geschüttelt, bevor sie zur Inkubation 15 h im Kühlschrank gelagert wurden.

Nach Abschluß der Inkubationszeit wurden die Proben zum Vorkühlen in ein Eisbad gestellt (5 min.). Dann wurden mit einer Dosierpipette 400 μ l Adsorptionslösung (Kohlesuspension) in die Röhrchen gegeben und sofort 5 min. bei 3000 U/min. bei 4°C zentrifugiert. Unverzüglich nach dem Zentrifugieren wurde der Überstand in kleine Packardflaschen dekantiert, pro Probe 4 ml Szintillatorflüssigkeit (Picofluor, Fa. Packard) hinzugesetzt und die Flaschen in ein Szintillationsmeßgerät gestellt, in

dem die Auszählung automatisch erfolgte (Rackbeta Liquid Scintillation Counter, Fa. LBK Wallace).

Standardlösungen: 47,66; 95,3; 190,7; 381,9; 763,8; 1527,6;
3055,2 pmol/l (WHO-Reagenz)

Referenzlösungen: 7330; 2090 pmol/l (Byk-Mallinckrodt)

Tracer : 2,4,6,7- H-östradiol (Amersham)

Antikörper : Anti-E2-6-carboxymethyl-BSA (Kanninchen)
(Schering)

3.2.2.3.3. Testosteron-Bestimmung im Zytosol

Die aufgetauten Hodenhomogenisate wurden 1-2 sec. geschüttelt und dann sofort in die bereitstehenden, nummerierten Glasröhrchen pipettiert. Wie üblich wurden auch hier wieder Doppelbestimmungen angefertigt: je 10 µl. Mit Zugabe von 90 µl Gelatine-Phosphat-Puffer erhielten die Proben das gleiche Volumen wie die Standardlösungen. Da eine Etherextraktion nicht notwendig war, wurden unmittelbar anschließend dazu 200 µl Antikörper und 100 µl Tracer pipettiert. Nach Schütteln der Proben wurden diese 20 h im Kühlschrank inkubiert.

Die weiteren Arbeitsgänge entsprechen denen der östradiolbestimmung (s. 3.2.2.3.2).

Standardlösungen: 2,7; 5,4; 10,8; 21,7; 43,4; 86,7; 173,5
nmol/l (WHO-Reagenz)

Referenzlösungen: 3,15; 18,7 nmol/l (Byk-Mallinckrodt)

Tracer : 1,2,6,7-testosteron (Amersham)

Antikörper : Anti-Testosteron-11 α -hemisuccinyl-BSA

3.2.3. Hodenhistologie

3.2.3.1. Fixierung

Die in Susa-Gemisch eingelegten Hoden wurden mindestens 24 h (erwachsene 48 h) fixiert. Dann wurde aus der Organmitte eine ca. 2 mm dicke Scheibe entnommen und zur weiteren Verarbeitung mit der Nummer versehen in ein kleines Metallbehältnis getan. Um das überschüssige Fixierungsmittel zu entfernen, wurden die Präparate 24 h in 90%-igem Ethanol gewaschen, bevor sie zur in das Autotechnikon eingesetzt wurden.

Im Autotechnikon wurden die Organe automatisch über eine aufsteigende Ethanolreihe vollständig entwässert, danach mit Methylbenzoat entspritet und dann wurde das Methylbenzoat mittels Benzol entfernt. Anschließend wurden die Präparate komplett mit Paraffin durchtränkt.

Die Einzelschritte des Autotechnikons laufen wie folgend ab:

- 96%-iger Ethanol (2 x 1 h)
- Isopropanol (2 x 1/2 h)
- Methylbenzoat (2 x 1/2 h)
- Benzol (2 x 1/4 h)
- Paraffin (1 x 12 h, dann 2 x 6 h)

Die anschließende Einbettung und Einblockung in numerierte Plastikblöcke erfolgte an einem Automaten.

3.2.3.2. Schneiden

Von den Hoden wurden mit Hilfe eines Microtoms 4 μ m dicke Schnitte angefertigt. Je vier Querschnitte eines Präparates

wurden nach dem Glätten im Wasserbad (40°C) auf einen nummerierten Objektträger aufgezogen und im Trockenschrank (60 °C) über Nacht getrocknet.

3.2.3.3. Färben

Nach der Entparaffinierung in Xylol wurden die Präparate in einer absteigenden Ethanolreihe für die Hämatoxylin-Eosin-Färbung vorbereitet. Dazu wurden die sublimathaltigen Schnitte (Susa-Gemisch) vor dem Färbevorgang zunächst in ethanolischer Jod-Jodkali-Lösung (4.2.) entsublimiert. Durch eine Natriumthiosulfat-Lösung wurde das überschüssige Jod entfernt. Nach kurzer Spülung in Wasser wurde der Färbevorgang begonnen und die Präparate anschließend über eine aufsteigende Ethanolreihe in Xylol übergeführt. Die Eindeckung erfolgte mit Eukitt. Die einzelnen Arbeitsschritte liefen wie folgt ab:

- | | |
|--------------------------------|----------------|
| - Xylol | (10 min.) |
| - Isopropanol | (2 x 1/2 min.) |
| - Ethanol (96%) | (2 x 1/2 min.) |
| - Ethanol (80%) | (2 x 1/2 min.) |
| - Jod-Jodkali | (10 min.) |
| - Natriumthiosulfat | (2 min.) |
| - wässern | |
| - Hämatoxylin | (10 min.) |
| - wässern in fließendem Wasser | (10 min.) |
| - Eosin | (1 min.) |
| - Ethanol (80%) | (1/2 min.) |
| - Ethanol (96%) | (2 x 1/2 min.) |

- Isopropanol (2 x 1/2 min.)
- Xylol (mind. 5 min.)
- Eukitt

4. Lösungen

4.1. Susa-Gemisch

Zur Herstellung von ca. 100 ml dieses Gemisches wurden

- 70 ml Sublimat (HgCl_2)
- 10 ml Trichloressigsäure
- 4 ml Eisessig
- 20 ml Formalin

in einem Erlenmeyerkolben gemischt. Der Ansatz erfolgte jeweils kurz vor Gebrauch.

4.2 Jod-Jodkali-Lösung

Jod-Jodkali-Lösung wurde zu Ethanol (80%) solange hinzugegeben, bis die Flüssigkeit gerade cognacfarben aussah. Die Herstellung erfolgte kurz vor der Verwendung.

4.3. Natriumthiosulfat-Lösung

Die zum Bleichen verwendete 0,25%-ige Natriumthiosulfat-Lösung wurde durch verdünnen einer 2,5%-igen Stammlösung mit Aqua dest. erhalten. Auch hier erfolgte der frische Ansatz täglich.

4.4 Hämatoxylin

In 1 l Aqua dest. wurde 1 g Hämatoxylin gelöst und 0,2 g Natriumjodat (NaJO_3) und 50 g Kalialaun pro analysi (Kaliumaluminiumsulfat: $\cdot \text{K Al}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$) hinzugegeben. Durch

Schütteln lösten sich die Salze und es wurden 50 g Chloralhydrat und 1 g kristalline Citronensäure zugefügt. Abschließend erfolgte die Filtration der Lösung.

4.5. Eosin

0,4 g Eosin wurden in 100 ml Ethanol (60%) gelöst.

4.6 TEMG-Puffer

Insgesamt wurden 100 ml Puffer benötigt. Dazu wurden

- 121 mg Tris-HCl
- 37,5 mg EDTA (Triplex III)
- 7 µl Mercaptoethanol (99%)
- 10 ml Glycerinlösung (8,7%)
- 50 ml Aqua bidest.

in einem Meßkolben mit einem Rührer vermischt. Dann wurde der pH-Wert dieses Puffers mit 1 n HCl auf 7,4 eingestellt, bevor zum Abschluß mit Aqua bidest. auf 100 ml aufgefüllt wurde.

III. Ergebnisse

1. Gewichte

1.1 Körpergewicht

Bei den Gewichten der Tiere ließen sich in keinem der durchgeführten Versuche signifikante Veränderungen gegenüber den Kontrolltieren feststellen (s. Abb 7 bis 10).

1.2. Organgewichte

Zum besseren Vergleich und Ausschluß wachstumsbedingter Störungen wurden die Organgewichte bezogen auf 100 g Körpergewicht berechnet.

In jedem Versuch existierte eine Tiergruppe als Kontrolle, die nur mit dem Träger für die zu applizierenden Substanzen behandelt wurde (Rizinusöl mit Benzylbenzoat, s.II.2.). Mit dieser Versuchsanordnung konnten Gewichtsveränderungen, die eventuell durch den Träger bedingt waren weitgehend ausgeschlossen werden.

1.2.1. Hoden

Im ersten Versuch zeigten sich folgende Gewichtsveränderungen (vgl. Abb. 11): Die Hodengewichte bei den mit der niedrigsten Dosis Androstendion behandelten Tieren (0,1 mg/d) glichen denen der Kontrollgruppe. Erst bei höheren Dosen (1 bzw 10 mg) kam es zu Gewichtsreduktionen. Bei 1 mg/d war das Gewicht

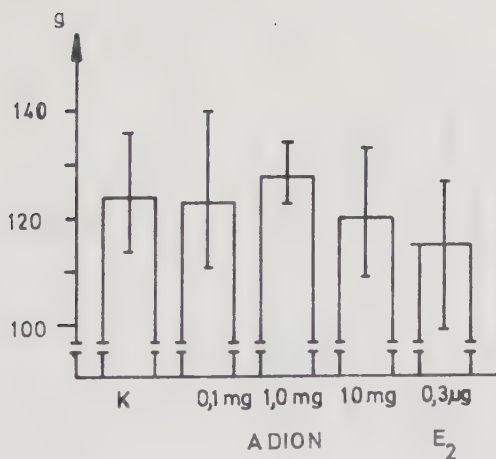


Abb. 7: Körpergewicht V1

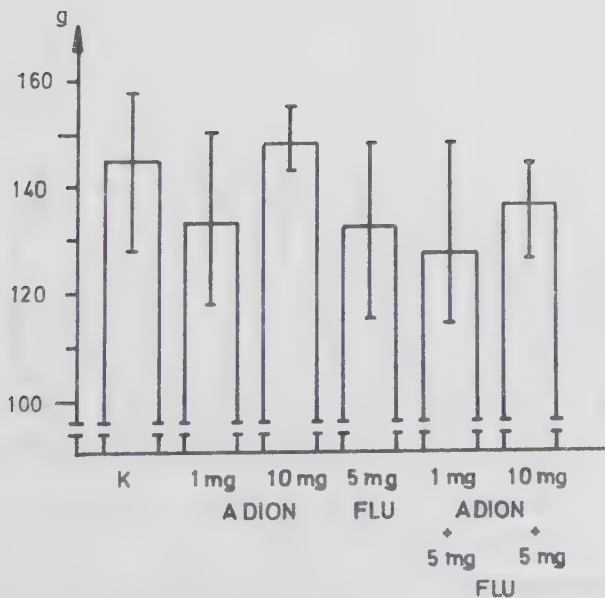


Abb. 8: Körpergewicht V2

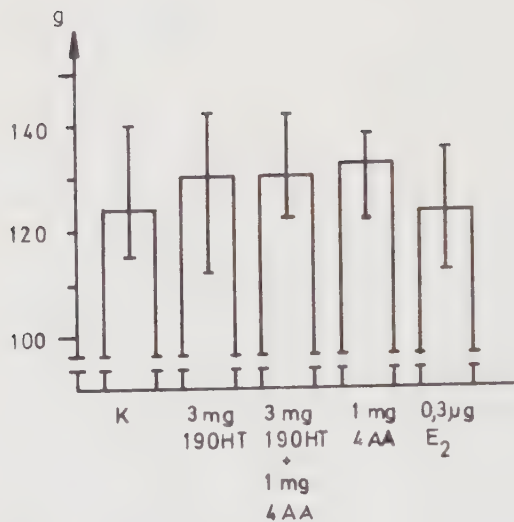


Abb. 9: Körpergewicht V3

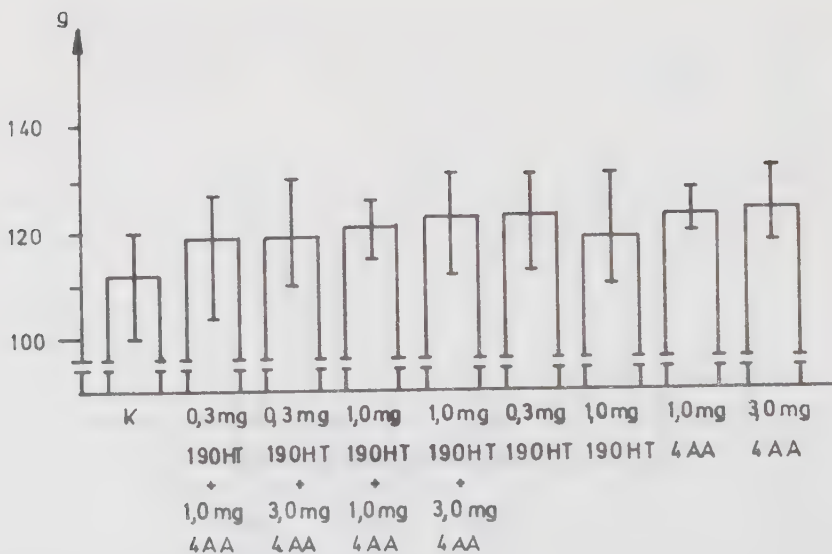
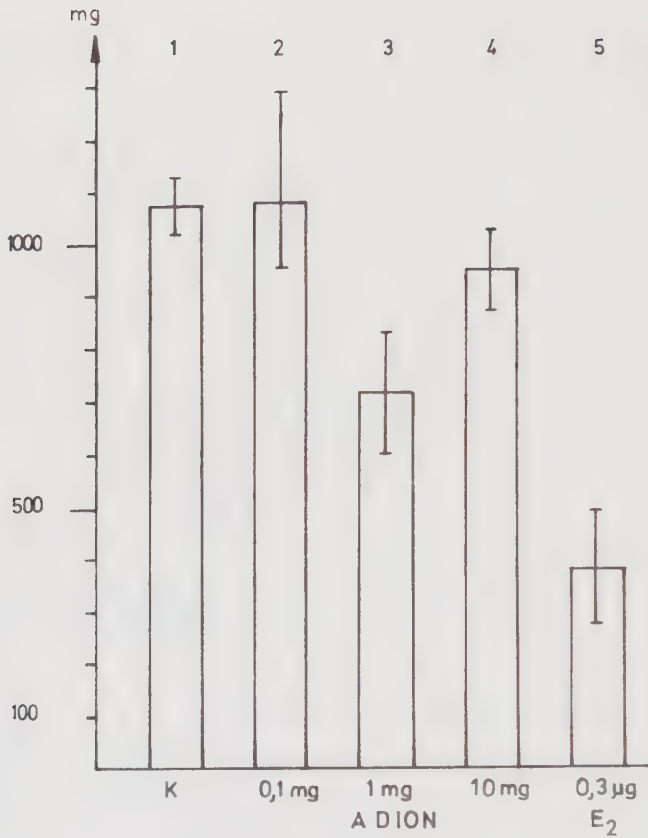


Abb. 10: Körpergewicht V4

signifikant erniedrigt, bei 10 mg/d konnte zwar eine Verringerung festgestellt werden, doch war diese statistisch nicht signifikant. Die Applikation von 0,3 µg Östradiol führte zu einer Reduktion von mehr als 50% des Kontrollwertes. Dabei war diese Veränderung auch signifikant gegenüber der mit 1 mg behandelten Gruppe.

Der zweite Versuch bestätigte die bei den verschiedenen Dosierungen von Androstendion ermittelten Hodengewichte. Statistisch signifikante Reduktionen bei Gabe von 1 mg/d, keine wesentlichen Veränderungen bei der zehnfachen Dosis. Die zusätzliche Applikation von 5 mg Flutamid hob den Effekt von Androstendion in der Dosierung von 1 mg fast vollständig auf, d.h. die Hodengewichte erreichten annähernd die Kontrollwerte. Dagegen zeigten die Hoden von Tieren, denen 5 mg Flutamid allein appliziert wurde eine nicht signifikante Gewichtsverminderung im Vergleich mit den unbehandelten Tieren. Die Kombination von 10 mg Androstendion und 5 mg Flutamid führte zu statistisch signifikant niedrigeren Hodengewichten. Die gemessenen Werte lagen unter den Gewichten, die bei alleiniger Gabe beider Substanzen ermittelt wurden (s. Abb.12).

Im dritten Versuch (Abb 13) war das Hodengewicht am stärksten in der Gruppe reduziert, die mit 3 mg 19-OH-Testosteron behandelt worden war: Es wurde nur ein Drittel des Kontrollwertes erreicht. Eine Reduktion auf die Hälfte der Kontrollgewichte war unter kombinierter Gabe von 3 mg 19-OH-Testosteron und dem Aromatasehemmer 4-Acetoxy-androstendion (1 mg/d) zu beobachten. Diese Veränderungen waren statistisch signifikant. Die Applikation von 1 mg 4-Acetoxy-androstendion allein verursachte keine Abweichung von den Gewichten der Kontrollgruppe.



T U K E Y - T E S T

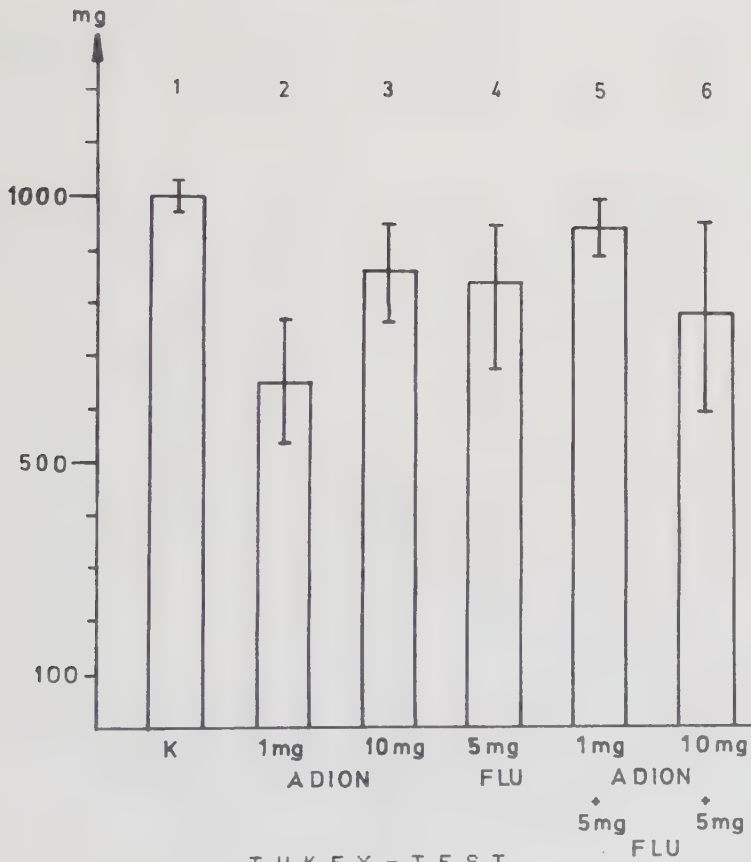
M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====

	I	1	2	3	4
5	I	*	*	*	*
4	I	-	-	*	
3	I	*	*		
2	I	-			
1	I				

Abb. 11: Hodengewicht V1

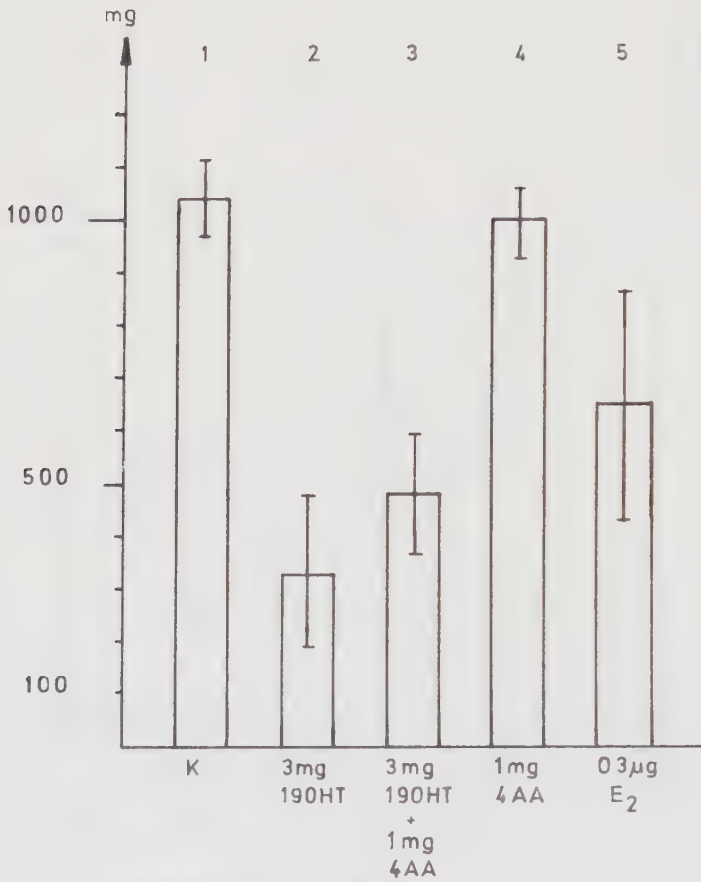


TUKEY - TEST
MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)
=====

	I	1	2	3	4	5
6 I	*	-	-	-	-	-
5 I	-	*	-	-	-	-
4 I	-	-	-	-	-	-
3 I	-	-	-	-	-	-
2 I	*	-	-	-	-	-

Abb. 12: Hodengewicht V2



T U K E Y - T E S T

M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

S I G N I F I K A N Z T A B E L L E (A L P H A = 5.0 %)

=====

	I	1	2	3	4
=====	I				
5	I	*	*	-	*
	I				
4	I	-	*	*	
	I				
3	I	*	-		
	I				
2	I	*			
	I				

Abb. 13: Hodengewicht V3

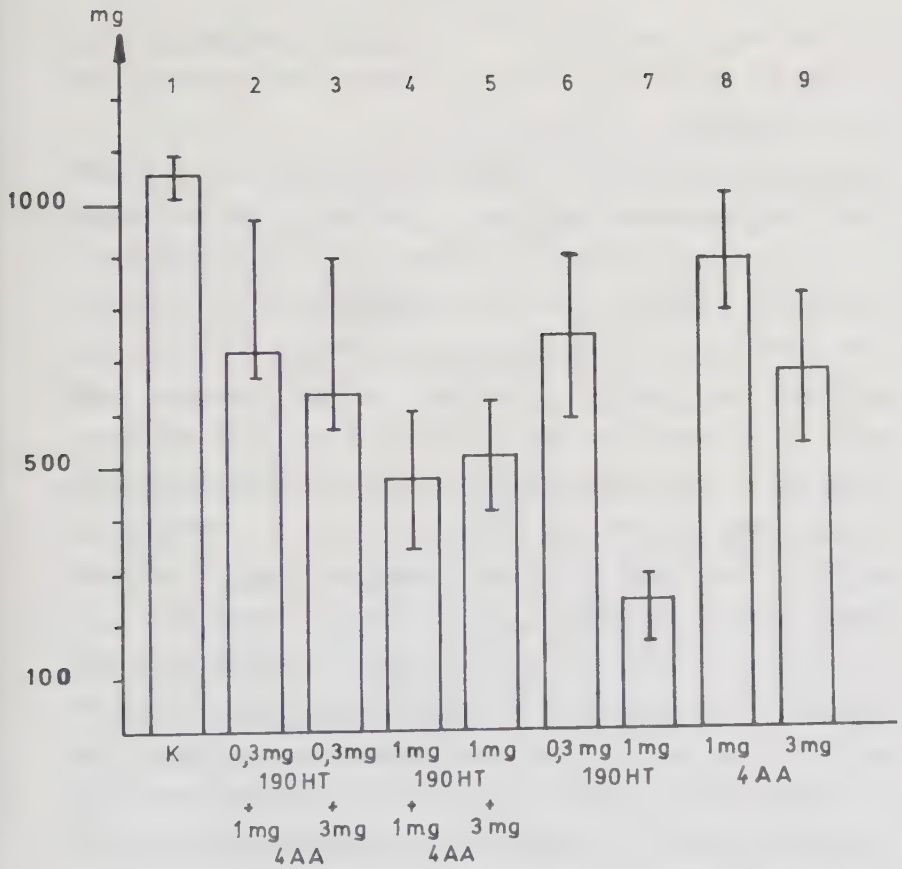


Abb.14: Hodengewicht V4

I	1	2	3	4	5	6	7	8
9 I	*	-	-	-	-	-	*	-
8 I	-	-	-	*	*	-	*	-
7 I	*	*	*	*	*	*	-	-
6 I	*	-	-	*	-	-	-	-
5 I	*	*	-	-	-	-	-	-
4 I	*	*	*	-	-	-	-	-
3 I	*	-	-	-	-	-	-	-
2 I	*	-	-	-	-	-	-	-

T U K E Y - T E S T
 MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE
 SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)
 =====

Die Gabe von 0,3 µg östradiol pro Tag führte analog dem ersten Versuch zu einer ca. 40%-igen, statistisch signifikanten Gewichtsreduktion.

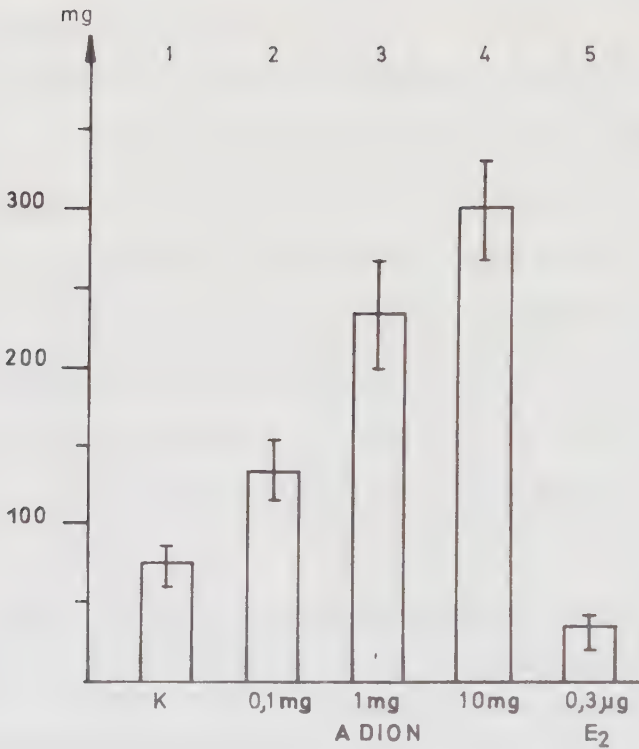
Versuch 4 bestätigte diese Ergebnisse (s. Abb 14): Auch hier lagen die gemessenen Gewichte der nur mit 19-OH-Testosteron (nun 0,3 und 1 mg/d) bzw. der Kombination von 19-OH-Testosteron und 4-Acetoxy-androstendion behandelten Tiere signifikant unter denen der Kontrollgruppe. Dabei erwies sich die Dosierung von 1 mg 19-OH-Testosteron als die stärkste Hemmdosis. Die zusätzliche Applikation von 1 bzw. 3 mg des Aromatasehemmers 4-Acetoxy-androstendion hob die Gewichtsverminderung zu einem gewissen Teil wieder auf, d.h. die Gewichte waren signifikant höher als in der allein mit 1 mg 19-OH-Testosteron behandelten Gruppe. Der Kontrollwert wurde aber nicht wieder erreicht. Die zwar geringgradig ausgeprägte, aber dennoch statistisch signifikante Reduktion des Hodengewichtes bei Applikation von 0,3 mg 19-OH-Testosteron konnte durch die zusätzliche Gabe von 1 bzw. 3 mg 4-Acetoxy-androstendion nicht beeinflusst werden. Bei täglicher alleiniger Gabe von 1 mg 4-Acetoxy-androstendion konnte zwar ein vermindertes Hodenwachstum festgestellt werden, doch war dies gegenüber der Kontrolle nicht signifikant. Anders die Gewichte der mit der höheren Dosis behandelten Tiere: 3 mg/d bewirkten eine signifikante Verlangsamung des Hodenwachstums.

Bei den im ersten Versuch untersuchten adulten Tieren konnten bei Applikation von Androstendion in den Dosierungen von 0,1, 1,0 und 10 mg/d keine wesentlichen Veränderungen des Hodengewichtes festgestellt werden. Lediglich die Gabe von 1 µg östradiol führte zu einer signifikanten Gewichtsreduktion.

1.2.2. Prostata und Samenblase

Wie aus Abb. 15 ersichtlich, bewirkte Androstendion im ersten Versuch in ansteigender Dosierung eine Zunahme des Prostatagewichtes, wobei schon in der geringsten Dosis (0,1 mg/d) eine signifikante Gewichtserhöhung zu beobachten war. Bei 10 mg hatte sich das Organgewicht im Vergleich zur Kontrolle vervierfacht. Die Samenblasengewichte verhielten sich im wesentlichen genauso, nur war hier die Gewichtszunahme bei der 0,1 mg Dosis Androstendion noch nicht signifikant. Dafür kam es bei der höheren Dosis zu einem Gewichtsanstieg um das Siebzehnfache (s. Abb.16). Die Applikation von Östradiol beeinflusste die Samenblasengewichte nicht, führte aber bei der Prostata zu einer signifikanten Gewichtsverminderung gegenüber der Kontrolle.

Im zweiten Versuch wurden die Ergebnisse des ersten im wesentlichen bestätigt. Auch hier lagen die Gewichte der mit 1 bzw. 10 mg/d Androstendion behandelten Tiere signifikant über den in der Kontrollgruppe ermittelten Werten. Verabreichte man den Tieren zusätzlich Flutamid in einer Dosierung von 5 mg/d so blieben die beobachteten Gewichtszunahmen der Androstendionbehandlung aus: Es bestanden signifikante Gewichtsunterschiede bei der Prostata (s. Abb. 17) und Samenblase (s. Abb. 18) im Vergleich zu den mit Androstendion allein behandelten Tieren. Dabei fiel die Gewichtsreduktion bei der niedrigen Androstendiondosis erwartungsgemäß stärker aus, die Werte lagen unter denen der Kontrollen. Die alleinige Gabe von Flutamid (5 mg) führte zu einer erheblichen Gewichtsverminderung der Samenblase und der Prostata, die bei der Prostata auch statis-



T U K E Y - T E S T

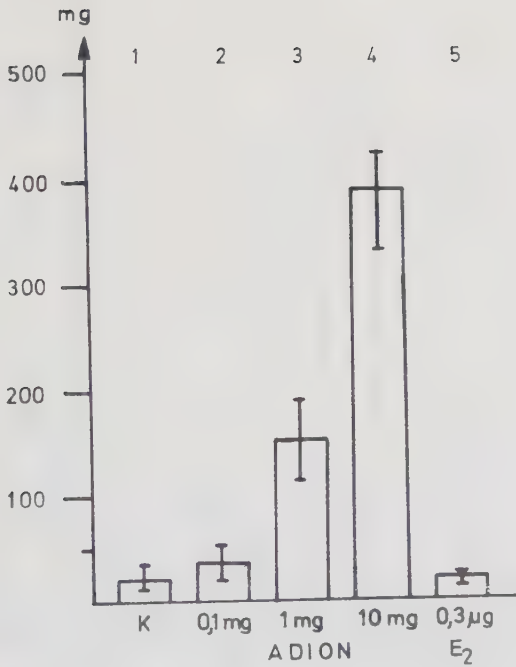
M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

S I G N I F I K A N Z T A B E L L E (A L P H A = 5.0 %)

=====

I	1	2	3	4
5 I	*	*	*	*
4 I	*	*	*	
3 I	*	*		
2 I	*			

Abb. 15: Prostatagewicht V1



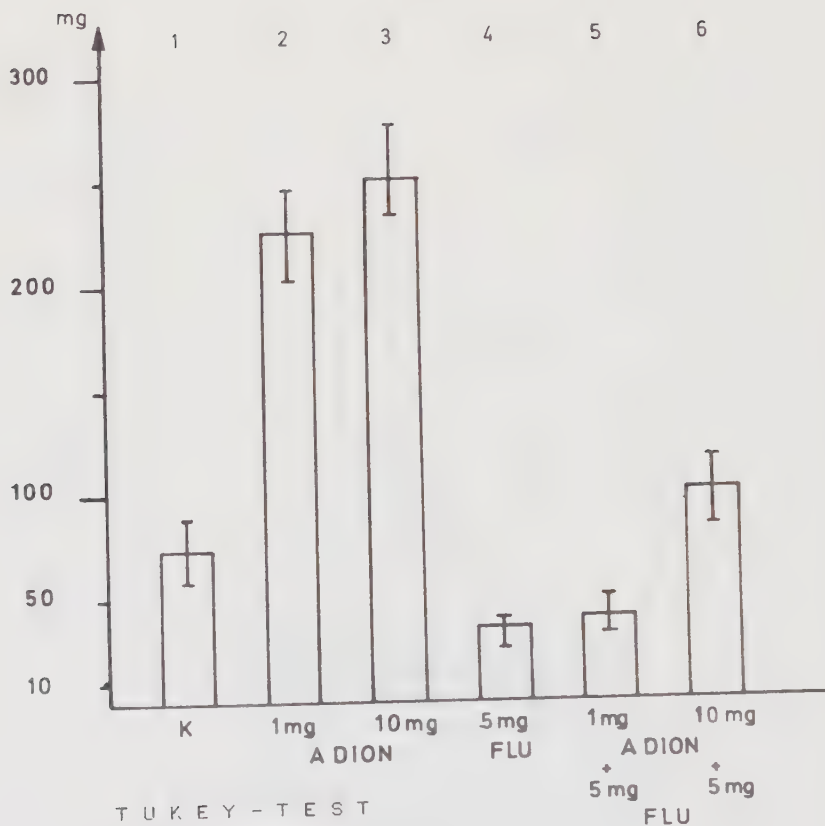
T U K E Y - T E S T

MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====				
I	1	2	3	4
=====				
5 I	-	-	*	*
I				
4 I	*	*	*	
I				
3 I	*	*		
I				
2 I	-			
I				

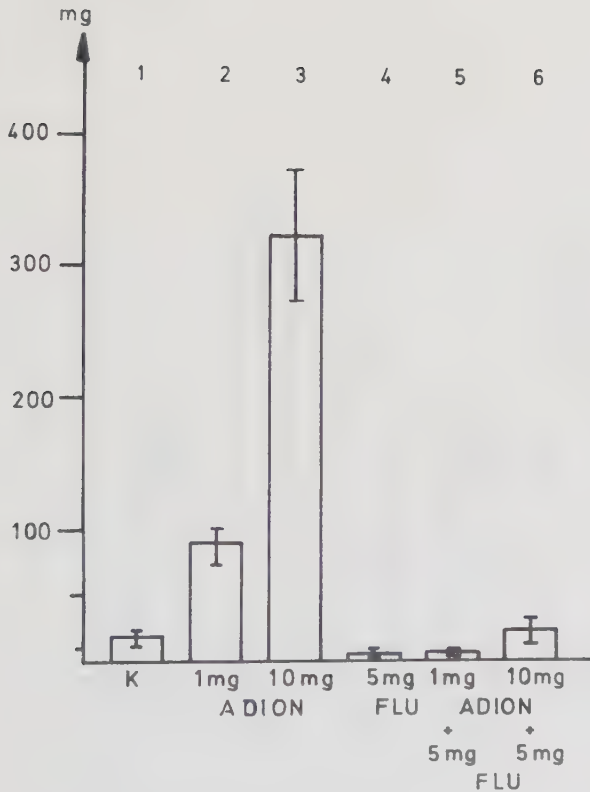
Abb. 16: Samenblasengewicht V1



SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

I	1	2	3	4	5
6 I	*	*	*	*	*
I					
5 I	*	*	*	-	
I					
4 I	*	*	*		
I					
3 I	*	*			
I					
2 I	*				

Abb. 17: Prostatagewicht V2



T U K E Y - T E S T

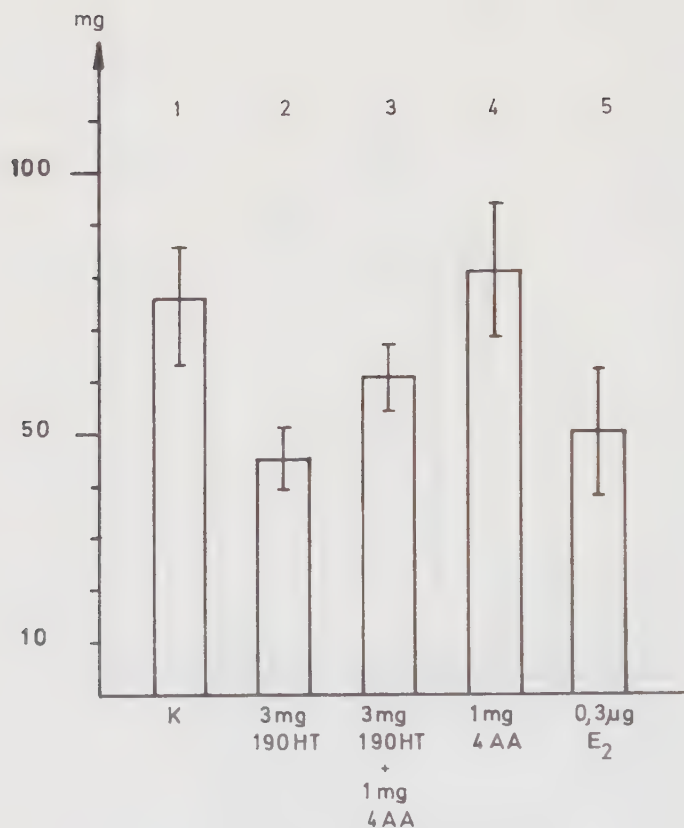
M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

S I G N I F I K A N Z T A B E L L E (A L P H A = 5.0 %)

=====

	1	2	3	4	5
6	-	*	*	-	-
5	-	*	*	-	-
4	-	*	*	-	-
3	*	*	-	-	-
2	*	-	-	-	-

Abb. 18: Samenblasengewicht V2



T U K E Y - T E S T

M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

S I G N I F I K A N Z T A B E L L E (A L P H A = 5.0 %)

=====

	I	1	2	3	4
5	I	*	-	-	*
4	I	-	*	*	
3	I	-	-		
2	I	*			
1	I				

Abb. 19: Prostatagewicht V3

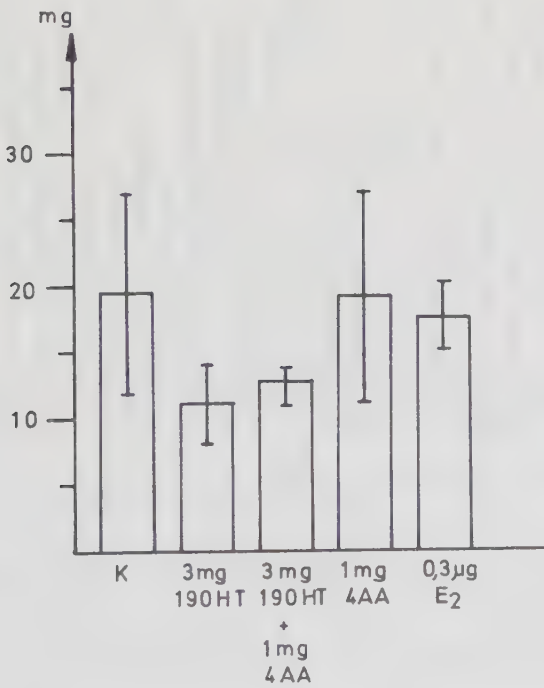
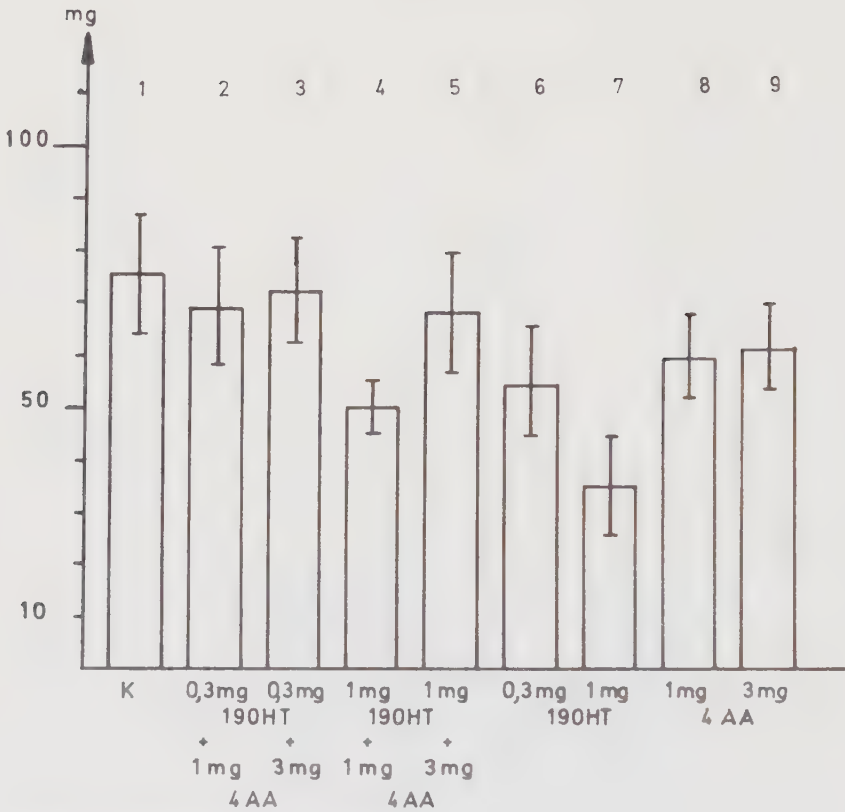


Abb. 20: Samenblasengewicht V3



SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

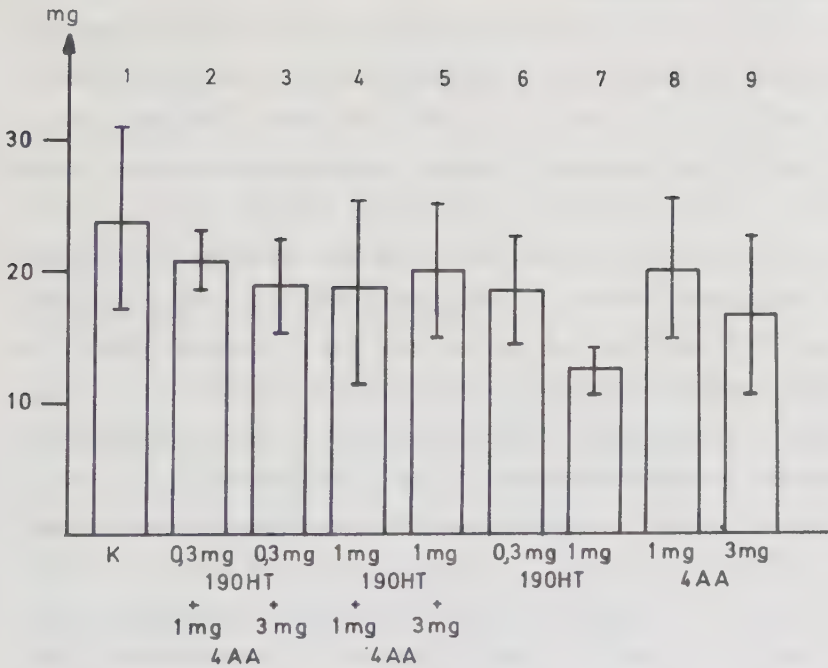
=====

	I	1	2	3	4	5	6	7	8
9 I	-	-	-	-	-	-	-	*	-
8 I	-	-	-	-	-	-	-	*	
7 I	*	*	*	-	*	*			
6 I	*	-	-	-	-				
5 I	-	-	-	-					
4 I	*	*	*						
3 I	-	-							
2 I	-								

T U K E Y - T E S T

M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

Abb. 21: Prostatagewicht V4



T U K E Y - T E S T

MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====

	I	1	2	3	4	5	6	7	8
=====I=====									
9 I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I									
8 I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I									
7 I	*	-	-	-	-	-	-	-	-
I									
6 I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I									
5 I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I									
4 I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I									
3 I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I									
2 I	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Abb. 22: Samenblasengewicht V4

tisch signifikant war.

Im dritten Versuch beobachtete man eine signifikante Abnahme des Prostatagewichtes bei Applikation von 3 mg 19-OH-Testosteron (s. Abb. 19), die durch die zusätzliche Gabe von 1 mg/d des Aromatasehemmers 4-Acetoxy-androstendion nur zu einem geringen Teil rückgängig gemacht werden konnte. Die alleinige Verabreichung von 4-Acetoxy-androstendion hatte keine Änderung des Prostatagewichtes zur Folge. Wie bereits im ersten Versuch kam es unter dem Einfluß von Östradiol (0,3 µg/d) zur signifikanten Gewichtsreduktion. Diese war jedoch nicht so ausgeprägt, wie die unter ausschließlicher 19-OH-Testosteron-Behandlung erzielte Verminderung des Drüsengewichtes. Die Veränderungen an der Samenblase verliefen parallel zu den bei der Prostata geschilderten, allerdings waren die Meßwerte nicht signifikant verringert gegenüber den Kontrollen (s. Abb. 20). Im Versuch 4 führte die Applikation von 19-OH-Testosteron an der Prostata zu einer signifikanten Abnahme, obwohl geringere Dosen eingesetzt wurden als im Versuch 3 (0,3 und 1 mg/d). Die durch 1 mg 19-OH-Testosteron verursachte Gewichtsreduktion war durch zusätzliche Applikation von 3 mg 4-Acetoxy-androstendion signifikant zu beeinflussen, die Kombination beider Substanzen führte zu Gewichten, die sich von den Kontrollwerten nicht wesentlich unterschieden. Bei der Kombination mit der niedrigen Dosis des Aromatasehemmers (1 mg) fiel diese Veränderung geringer aus. Die Aufhebung des Effektes des aromatisierbaren 19-OH-Testosteron durch 4-Acetoxy-androstendion entsprach in der kleineren Dosierung (0,3 mg/d) den oben beschriebenen Beobachtungen, doch waren hier die Unterschiede nicht signifikant (Abb. 21). Die isolierte Gabe des Aromatasehemmers

4-Acetoxy-androstendion (1 und 3 mg/d) verursachte keine entscheidende Änderung des Prostatagewichtes.

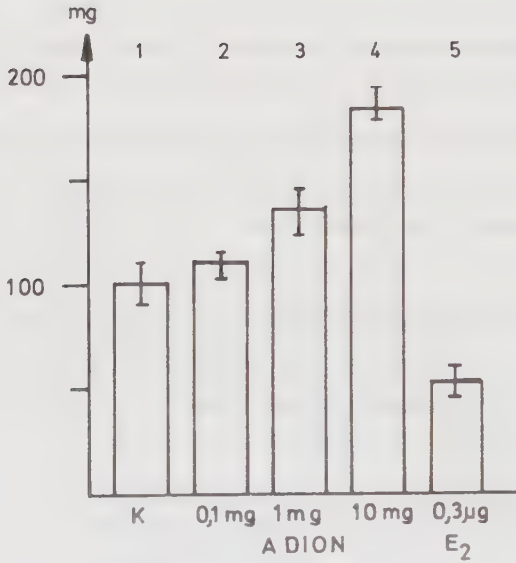
Die Gewichtsänderungen der Samenblase verhielten sich analog, hier konnte nur die Gabe von 1 mg 19-OH-Testosteron signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrolle bewirken (s. Abb. 22).

Bei den adulten Ratten des ersten Versuches führte die Verabreichung von Androstendion in einer Dosierung von 1 mg/d zu einer signifikanten Gewichtszunahme der Prostata. In der Dosierung von 10 mg war dann die Erhöhung des Gewichtes auch bei der Samenblase statistisch relevant. Unter Östradiol (1,0 µg/d) waren bei beiden akzessorischen Geschlechtsdrüsen hochgradige Gewichtsreduktionen zu vermerken.

1.2.3. Nebenhoden

Während die Dosierung von 0,1 mg Androstendion im ersten Versuch noch keine signifikante Gewichtszunahme verursachte, war der Unterschied bei Verabreichung höherer Dosen (1 und 10 mg) deutlicher (s. Abb. 23). Unter 10 mg Androstendion kam es fast zu einer Verdopplung des Organgewichtes. Eine Reduzierung auf die Hälfte des Kontrollwertes war bei Gabe von Östradiol (0,3 µg/d) zu beobachten.

Im zweiten Versuch war die Gewichtszunahme unter Androstendion nicht so deutlich wie im Versuch 1, doch lag sie signifikant über den Kontrollwerten. Bei Flutamid in einer Dosierung von 5 mg/d war eine erhebliche Gewichtsreduktion zu ermitteln. Die Kombination von 1 bzw. 10 mg Androstendion mit dem Antiandrogen Flutamid bewirkte signifikant niedrigere Gewichte ver-



T U K E Y - T E S T

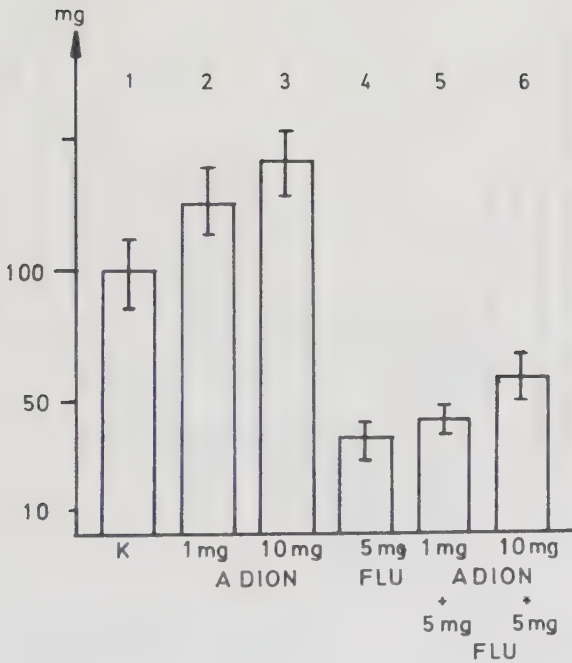
MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====

I	1	2	3	4
5 I	*	*	*	*
4 I	*	*	*	
3 I	*	*		
2 I	-			

Abb. 23: Nebenhodengewicht V1



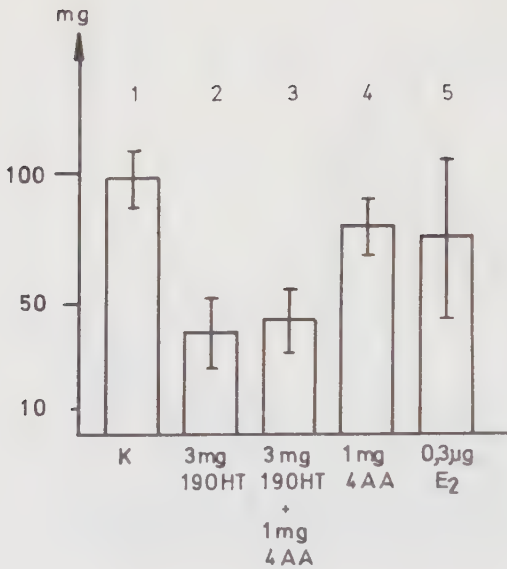
T U K E Y - T E S T

M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

S I G N I F I K A N Z T A B E L L E (A L P H A = 5.0 %)

I	1	2	3	4	5
6 I	*	*	*	*	-
5 I	*	*	*	-	
4 I	*	*	*		
3 I	*	-			
2 I	*				

Abb. 24: Nebenhodengewicht V2



T U K E Y - T E S T

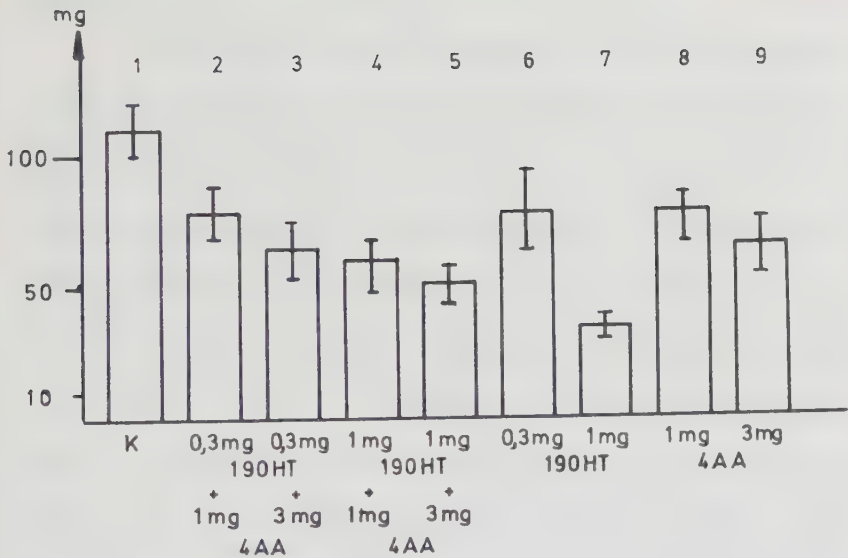
MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====

	1	1	2	3	4
=====	1	=====			
5	1	-	*	*	-
4	1	-	*	*	
3	1	*	-		
2	1	*			
1					

Abb. 25: Nebenhodengewicht V3



T U K E Y - T E S T

MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====									
	I	1	2	3	4	5	6	7	8
9	I	*	-	-	-	-	-	*	-
8	I	*	-	-	-	*	-	*	
7	I	*	*	*	*	-	*		
6	I	*	-	-	*	*			
5	I	*	*	-	-				
4	I	*	*	-					
3	I	*	-						
2	I	*							
1	I								

Abb. 26: Nebenhodengewicht V4

glichen mit den Kontrollen und damit auch zu den Gruppen, denen nur Androstendion appliziert wurde (s. Abb. 24).

Im dritten Versuch zeigte sich bei Gabe von 3 mg 19-OH-Testosteron eine signifikante Verminderung des Nebenhodengewichtes. Durch zusätzliche Verabreichung des Aromatasehemmers 4-Acetoxy-androstendion wurde diese Gewichtsreduktion nicht wesentlich beeinflusst (s. Abb. 25). Die alleinige Applikation des Aromatasehemmers führte zu einer nicht signifikanten Gewichtsabnahme. In Höhe dieser Meßwerte lagen auch die Werte der mit Östradiol behandelten Versuchstiere.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe waren im Versuch 4 in allen Versuchsgruppen signifikant niedrigere Gewichte zu finden. Dabei waren die Nebenhoden am kleinsten in der mit 1 mg 19-OH-Testosteron behandelten Gruppe (ein Drittel der Kontrolle). Diese Wachstumshemmung konnte durch den Zusatz von 4-Acetoxy-androstendion aufgehoben werden, wobei die Gewichtszunahme bei der Kombination mit 1 mg 4-Acetoxy-androstendion gegenüber der 1 mg 19-OH-Testosteron-Gruppe signifikant war (s. Abb. 26). Die Kombination von 1 mg 19-OH-Testosteron plus 3 mg 4-Acetoxy-androstendion verursachte nur eine geringgradige Zunahme des Organgewichtes im Vergleich mit den mit dem aromatisierbaren 19-OH-Testosteron allein behandelten Tieren. Die Gewichte der mit 0,3 mg 19-OH-Testosteron bzw. zusätzlich mit dem Aromatasehemmer (1 oder 3 mg/d) behandelten Ratten unterschieden sich nicht voneinander.

Bei den erwachsenen Tieren (Versuch 1) waren signifikante Veränderungen gegenüber den Kontrollen nur bei Östradiol zu messen.

2. Hodenhistologie

In den infantilen Kontrollgruppen erkennt man eine altersentsprechende Ausreifung der Spermien mit Zellen aller Reifungsstadien (s. Abb. 27). Neben den basal liegenden Spermatogonien mit hellen, blasigen Zellkernen und den kleinen dunkelkernigen primären Spermatozyten im leptotenen Stadium, sind in einigen Tubuli primäre Spermatozyten im pachytenen Stadium, also noch vor der Reifeteilung, mit großen chromatinhaltigen Kernen und einige reife Spermatozoen mit spindeligen Kopf (Zellkern) und langem, im Tubulus aufgeknäultem Schwanz zu sehen. In anderen Tubuli finden sich entsprechend dem wellenförmigen Ablauf der Spermatogenese neben den Spermatogonien überwiegend Zellen nach der Reifeteilung: Sekundäre Spermatozyten bzw. Spermatiden mit hellen Zellkernen, die teilweise bereits etwas elongiert sind (Spermiogenese). Entlang der Basalmembran sind die Sertoli-Zellen mit ihren prominenten Nucleoli zu erkennen. Zwischen den Tubuli, im Interstitium, liegen die Leydig-Zellen. Vereinzelt sind in den Zwickeln Gefäße vorhanden. Das histologische Bild entspricht dem Normalbefund bei präpubertären Ratten.

Im Versuch 1 unterscheidet sich die Histologie der mit 0,1 mg Androstendion behandelten Tiere nicht von der Kontrollgruppe. Bei Applikation von 1 mg Androstendion sind die Hodenkanälchen etwas atrophisch und zellärmer als die Kontrolle. Eine Ausreifung bis zu den Spermatozoen ist nur in wenigen Tubuli erkennbar, allerdings finden sich überall Spermatiden. Die Anzahl der Leydig-Zellen ist teilweise erheblich vermindert (s. Abb. 28). Bei den mit 10 mg/d behandelten Tieren fehlen die

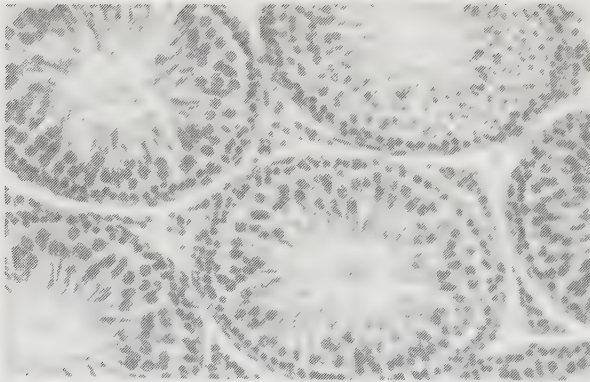


Abb. 27: Hodenhistologie der Kontrollgruppe .
Infantile Tiere.

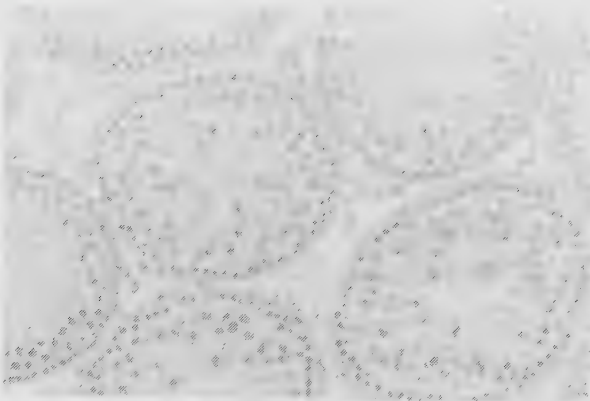


Abb. 28: Histologie nach Behandlung mit
mit 1,0 mg Androstendion

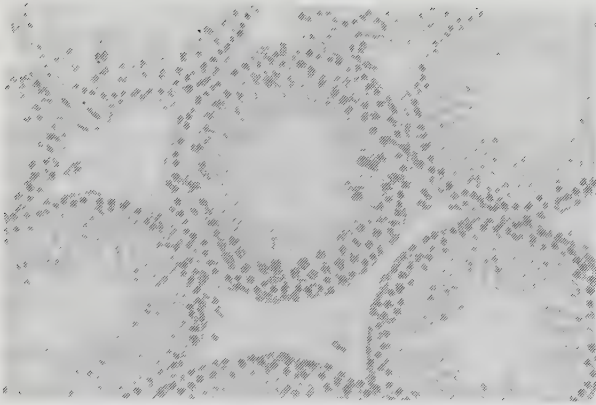


Abb. 29: Histologie nach Behandlung mit
10 mg Androstendion

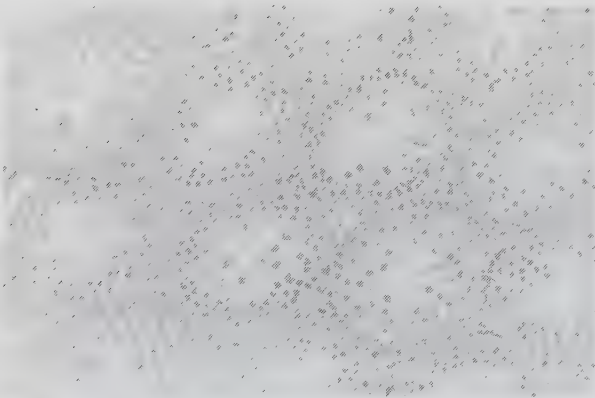


Abb. 30: Histologie nach Behandlung
mit 0,3 µg Östradiol

Leydig'schen Zwischenzellen fast vollständig und die Kerne der verbliebenen Zellen sind spindelig atrophiert. Die Spermatogenese läuft dagegen regelrecht ab (s. Abb. 29). Nach östradiolgabe (Abb. 30) sind die Tubuli stark atrophisch mit einem kleinen Restlumen und bedeutend zellärmer als die Kontrollorgane. Es sind lediglich Zellen vor der Reifeteilung vorhanden, d.h. die Spermiogenese fehlt vollständig. Dabei überwiegen die Zellen im pachytenen und leptotenen Stadium. Daneben sind Spermatogonien zu sehen. Es finden sich im Keimepithel einzelne Zelldegenerationen mit ballonierten Zellkernen. Die Anzahl der Leydig-Zellen ist vermindert und die Zellen sind atrophiert mit spindeligen Kernen.

Versuch 2: Das Bild der mit 1 mg Androstendion behandelten Tiere unterscheidet sich nicht von der im ersten Versuch in dieser Gruppe gesehenen Histologie: leicht atrophierte Tubuli seminiferi, mäßige Beeinträchtigung der Spermiogenese, erheblich verminderte Zahl der Leydig-Zellen. Auch bei 10 mg besteht kein Unterschied zu der korrespondierenden Gruppe des ersten Versuches: altersentsprechende Spermiogenese bei nahezu vollständigem Fehlen der Leydig-Zellen. Die alleinige Gabe von 5 mg Flutamid führt zu einer auffallenden Proliferation der Zwischenzellen: Die Tubuli sind zum Teil von breiten Leydig-Zellbändern umschlossen (s. Abb. 31). Die Spermatogenese und vor allem die Spermiogenese sind beeinträchtigt. Es finden sich viele Zellen vor der Reifeteilung (leptotenes und pachytenes Stadium). Auch Spermatiden sind in den meisten Tubuli vorhanden, doch findet man kaum reife Spermatozoen im Tubuluslumen. In vielen Hodenkanälchen sind degenerative Veränderungen, wie ballonierte, hyperchrome Zellkerne zu erken-



Abb. 31: 5 mg Flutamid

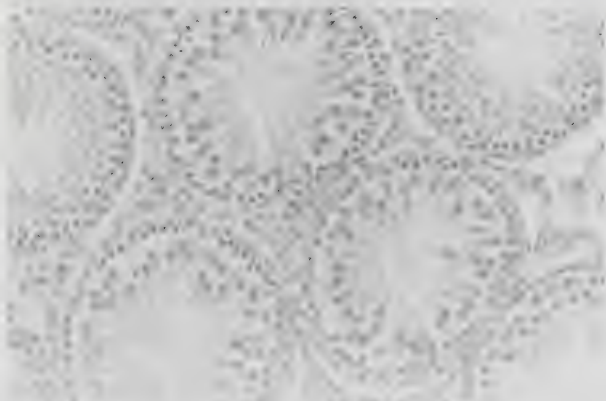


Abb. 32: 5 mg Flutamid
+ 1 mg Androstendion



Abb. 33: 5 mg Flutamid
+ 10 mg Androstendion

Infantile Rattenhoden

nen.

Im Vergleich mit der nur mit 1 mg Androstendion behandelten Tiergruppe ist bei der Kombination mit 5 mg Flutamid eine regelrechte altersentsprechende Spermiogenese zu sehen (s. Abb. 32). In den meisten Hodenkanälchen finden sich die langgestreckten Köpfe der reifen Spermatozoen, in den übrigen Tubuli sind Spermatiden erkennbar. Das Keimepithel ist zellreich und gleicht fast den Kontrolltieren. Die Leydig-Zellen sind hypertrophiert und in großer Anzahl vorhanden, d.h. wesentlich vermehrt gegenüber der 1 mg Androstendion-Gruppe. Verglichen mit der Gruppe, der nur 5 mg Flutamid appliziert wurde, fällt die Hyperplasie allerdings geringer aus.

Gegenüber dem Bild der mit 10 mg Androstendion allein behandelten Tiere ist die Spermiogenese bei der Kombination von 10 mg Androstendion plus 5 mg Flutamid erheblich gestört (vgl. Abb. 33). Reife Spermatozoen liegen nur vereinzelt im Keimepithel, das zellärmer ist als das der Vergleichsgruppe. Spermatiden sind in vielen Tubuli zu erkennen, daneben gibt es viele Zellen, die sich noch im Stadium vor der Reifeteilung befinden. Verglichen mit der Vorgruppe (1 mg Androstendion plus 5 mg Flutamid) ist die Spermiogenese stärker beeinträchtigt. Die Leydig-Zellhyperplasie ist auch in dieser Tiergruppe recht ausgeprägt, doch weniger deutlich als in der mit 5 mg Flutamid oder der mit 1 mg Androstendion plus 5 mg Flutamid behandelten Gruppe. Auffallend ist, daß im Keimepithel fast aller Tubuli degenerative Veränderungen zu sehen sind.

Im dritten Versuch ist bei den mit 3 mg 19-OH-Testosteron behandelten Ratten die Spermio- und Spermatogenese hochgradig gestört (s. Abb. 34). Die Tubuli sind atrophisiert, das Keim-

1
2
1



Abb. 34:

3 mg 19-OH-Testosteron

Infantile Rattenhoden

Abb. 35:

3 mg 19-OH-Testosteron

+ 1 mg 4-Acetoxy-androstendion

Abb. 36:

1 mg 4-Acetoxy-androstendion

epithel ist zellärmer als das der Kontrollgruppen und zeigt fast nur Zellen vor der Reifeteilung (leptotenes und pachytenes Stadium). Das Tubuluslumen weist nur ganz vereinzelt frühe Spermatiden auf, reife Spermatozoen lassen sich nirgendwo finden. Die Leydig-Zellen sind in der Anzahl verringert und haben spindelige, atrophiierte Kerne. Im Keimepithel sind degenerativ veränderte Zellen vorhanden.

In der Gruppe, der die Kombination von 3 mg 19-OH-Testosteron plus 1 mg 4-Acetoxy-androstendion appliziert wurde, ist die Spermiogenese ebenfalls hochgradig gestört (s. Abb. 35): Reife Spermatozoen sind nicht zu sehen, doch sind im Tubuluslumen relativ mehr Spermatiden erkennbar. Obwohl auch hier insgesamt die Zellen vor der Reifeteilung überwiegen, ist das Bild besser als in der Vorgruppe. Die atrophiierten Tubuli sind größer als bei den nur mit 19-OH-Testosteron behandelten Tieren. Verglichen mit dieser Gruppe sind die Leydig-Zellen noch stärker reduziert: nur vereinzelt liegen die Zellen zwischen den Tubuli und sind dabei hochgradig atrophiiert. Es finden sich multiple Zelldegenerationen.

Die mit 1 mg 4-Acetoxy-androstendion behandelten Ratten zeigen in der Histologie eine altersentsprechende Spermato- und Spermiogenese mit kompletter Ausreifung (s. Abb. 36). Da auch die Leydig-Zellen in normaler Zahl vorhanden sind, entspricht das Bild vollkommen der Kontrollgruppe.

Bei den Tieren, denen 0,3 µg Östradiol appliziert wurde, sieht man - wie schon im ersten Versuch - atrophiierte Tubuli, in denen eine Reifung nur bis zu den frühen Spermatiden erfolgt, währenddessen reife Zellen, die die Spermiogenese durchlaufen haben, nicht zu finden sind. Die Zwischenzellen sind vermin-

dert, teilweise atrophiert.

Im vierten Versuch zeigen die mit 0,3 mg 19-OH-Testosteron behandelten Tiere eine Beeinträchtigung der Spermiogenese: Es sind kaum die langgestreckten Köpfe der reifen Spermatozoen zu sehen (s. Abb. 37). Die Leydig-Zellen sind unverändert. Im Keimepithel finden sich einzelne degenerative Veränderungen. Wie bei der Tiergruppe, die mit 3 mg 19-OH-Testosteron (Versuch 3) behandelt wurde, findet sich auch bei Ratten, die 1 mg erhielten eine hochgradige Reifungsstörung (s. Abb. 40). Das histologische Bild unterscheidet sich kaum von der dreifach höheren Dosis: Hochgradig atrophische Tubuli mit einem zellarmen Keimepithel, das nur aus Zellen im leptotenen und pachytenen Stadium besteht. Die Spermiogenese fehlt vollständig. Durch die Tubulusatrophie wird ein Reichtum an Spermato gonien vorgetäuscht, die dicht nebeneinander entlang der Basalmembran liegen. Verglichen mit der Kontrollgruppe ist die Menge der Leydig-Zellen verringert. Die Zellen sind atrophiert mit spindelligen Kernen und dünnen Zelleibern. Diese Veränderungen sind gegenüber der Vorgruppe sehr ausgeprägt.

Bei Kombination von 0,3 mg 19-OH-Testosteron mit dem Aromatasehemmer 4-Acetoxy-androstendion in einer Dosis von 1 mg/d (s. Abb. 38) zeigt sich wieder eine lebhaftere Spermatogenese mit vielen Spermatiden und die Spermiogenese ist nahezu altersentsprechend. Anders als bei der Gruppe, der nur 0,3 mg 19-OH-Testosteron verabreicht wurde, liegen hier die langgestreckten Köpfe der Spermatozoen zwischen den heranreifenden Zellen im Keimepithel. Die Leydig-Zellen sind gegenüber der Kontrolle unverändert.

Eine Erhöhung des Aromatasehemmers auf 3 mg/d bewirkt keine



Abb. 37:

0,3 mg 19-OH-Testosteron

Abb. 38:

0,3 mg 19-OH-Testosteron
+ 1 mg 4-Acetoxy-androstendion

Abb. 39:

0,3 mg 19-OH-Testosteron
+ 3 mg 4-Acetoxy-androstendion

Infantile Rattenhoden



Abb. 40:

1 mg 19-OH-Testosteron

Infantile Rattehnoden

Abb. 41:

1 mg 19-OH-Testosteron

+ 1 mg 4-Acetoxy-androstendion

Abb. 42:

1 mg 19-OH-Testosteron

+ 3 mg 4-Acetoxy-androstendion

wesentliche Änderung der Spermato- und Spermiogenese. Es sind reichlich reife Spermatozoen und Spermatiden im Keimepithel vorhanden (s. Abb. 39). Im Gegensatz dazu ist aber die Anzahl der Zwischenzellen gegenüber der Kontrolle und der nur mit 0,3 mg 19-OH-Testosteron bzw. der Kombination mit 1 mg 4-Acetoxyandrostendion behandelten Tiere verringert.

Verglichen mit der alleinigen Gabe von 1 mg 19-OH-Testosteron führt der Zusatz von 1 mg 4-Acetoxyandrostendion zu einer deutlichen Verbesserung der generativen Funktion (s. Abb. 41). Es überwiegen zwar immernoch leicht die Zellen vor der Reifeteilung, doch sind in vielen Tubuli Spermatiden erkennbar, also Zellen, die die Meiose durchlaufen haben. Die Tubuli sind damit auch wieder größer. Die Anzahl der Leydig-Zellen ist gegenüber der nur mit 1 mg 19-OH-Testosteron behandelten Versuchsgruppe unverändert, doch verglichen mit der Kontrolle findet sich eine Verringerung der Zwischenzellen.

Die Kombination von 1 mg 19-OH-Testosteron mit der dreifach höheren Dosis des Aromatasehemmers (3 mg/d) kann keine wesentliche weitere Normalisierung der Spermatogenese bewirken (s. Abb. 42). Wie in der Vorgruppe sind in den meisten Hodenkanälchen Spermatiden vorhanden, doch fehlen reife Zellen. Es überwiegen in vielen Tubuli noch Zellen vor der Reifeteilung (pachytenes Stadium). Die Leydig-Zellen sind in der Menge reduziert und atrophiert. Es treten vereinzelt degenerative Veränderungen im Keimepithel in Erscheinung (ballionierte Zellen mit pyknotischen Kernen).

Der Aromatasehemmer allein in der Dosierung von 1 mg bewirkt keine wesentliche Änderung des histologischen Bildes gegenüber der Kontrolle. Die Spermien reifen aus, die Leydig-Zellen sind

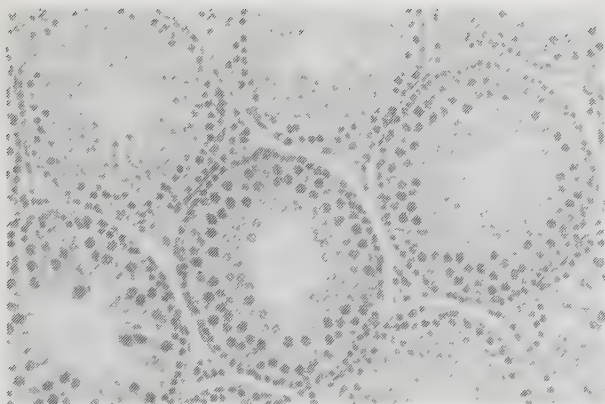


Abb. 43: 1 mg 4-Acetoxy-androstendion
Infantile Rattenhoden

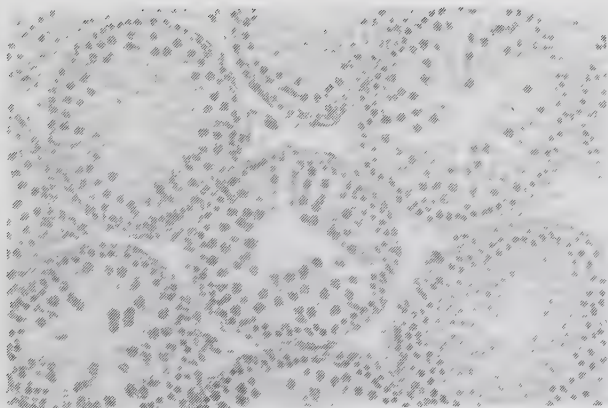


Abb. 44: 3 mg 4-Acetoxy-androstendion
Infantile Rattenhoden

in normaler Menge vorhanden (s. Abb. 43). In höherer Dosierung (3 mg) sind die Tubuli leicht atrophiert und die Spermiogenese ist gestört: Es sind zwar reichlich Spermatiden nach der Reifeteilung vorhanden, reife Spermatozoen mit langgestrecktem Kopf fehlen jedoch. Das Tubuluslumen ist meist relativ eng. Die Zahl der Leydig-Zellen ist deutlich verringert (s. Abb. 44).

Bei den erwachsenen Tieren des ersten Versuches ist in der Kontrollgruppe die normale Spermato- und Spermiogenese in den großen Tubuli gut erkennbar (s. Abb. 45): Die Hodenkanälchen sind prall mit Spermatozoen gefüllt, deren Schwänze sich in der Mitte des Lumens aufknäulen. Es sind im Keimepithel alle Reifungsstufen der Spermatogenese zu sehen. Die Räume zwischen den Tubuli sind mit den Leydig'schen Zwischenzellen ausgefüllt, die in größerer Zahl als bei den infantilen Tieren vorhanden sind. Die Applikation von 0,1 mg Androstendion hat keine Änderung des histologischen Bildes zur Folge und bei 1 mg/d scheinen auch nur die Leydig-Zellen etwas verringert. Bei Verabreichung von 10 mg Androstendion ist die Spermiogenese leicht eingeschränkt, die Tubuli sind nicht so prall mit reifen Spermatozoen gefüllt wie bei den Kontrolltieren. Dabei sind die Kanälchen etwas atrophiert. Die Anzahl der Leydig-Zellen ist geringgradig reduziert, sie sind atrophiert mit einer Verschmälerung des Cytoplasmasaumes (Abb. 46). Die Applikation von 1 µg Östradiol führt zu einer leichten Beeinträchtigung der Spermiogenese verglichen mit der Kontrolle. Wesentliche Änderung bei den Leydig-Zellen sind nicht zu beobachten.

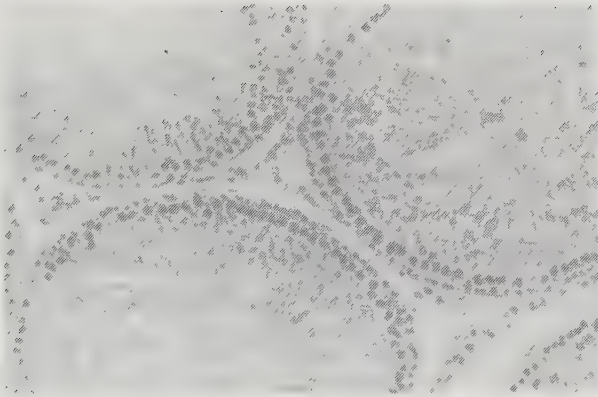


Abb. 45: Hodenhistologie der Kontrollgruppe
Adulte Tiere

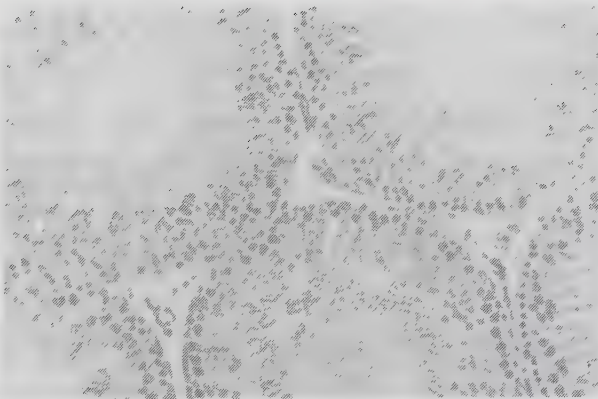


Abb. 46: Histologie nach der Behandlung mit
10 mg Androstendion
Adulte Tiere

3. Hormonkonzentration

3.1. LH

Die im ersten Versuch bestimmten LH-Konzentrationen im Serum zeigten bei Applikation von höheren Dosen Androstendion (1 und 10 mg) sowie Östradiol (0,3 µg) gegenüber der Kontrolle niedrigere Meßwerte, doch waren die Veränderungen nicht signifikant (s. Abb. 47). Bei Gabe von 0,1 mg Androstendion pro Tag kam es zu einem leichten Anstieg der LH-Werte, der jedoch auch nicht signifikant war.

Im zweiten Versuch verringerte die alleinige Applikation von Androstendion wie schon im Versuch 1 die Gonadotropinkonzentration. Dagegen kam es unter Gabe von 5 mg Flutamid zu einem exzessiven, d.h. damit auch statistisch signifikanten Anstieg der LH-Werte (s. Abb. 48). Noch stärker stiegen die Konzentrationen bei kombinierter Gabe von 5 mg Flutamid und 1 mg Androstendion. Unter der Kombination von 5 mg Flutamid und 10 mg Androstendion gemessene Werte lagen über den Kontrollwerten, doch unter den hohen Werten der anderen Kombinationen.

Im dritten Versuch war nach der Verabreichung von 3 mg 19-OH-Testosteron bzw. 3 mg Flutamid plus 1 mg 4-Acetoxyandrostendion eine nicht signifikante Reduktion der Serum-LH-Werte festzustellen, während 1 mg/d des Aromatasehemmers 4-Acetoxyandrostendion allein appliziert und 0,3 µg Östradiol keine Änderung der Konzentration bewirkten (s. Abb. 49).

Im Versuch 4 verursachte die Applikation von 19-OH-Testosteron in einer Dosierung von 1 mg/d eine signifikante Reduktion der Serumkonzentration des Hormons (s. Abb. 50). Der Effekt ließ

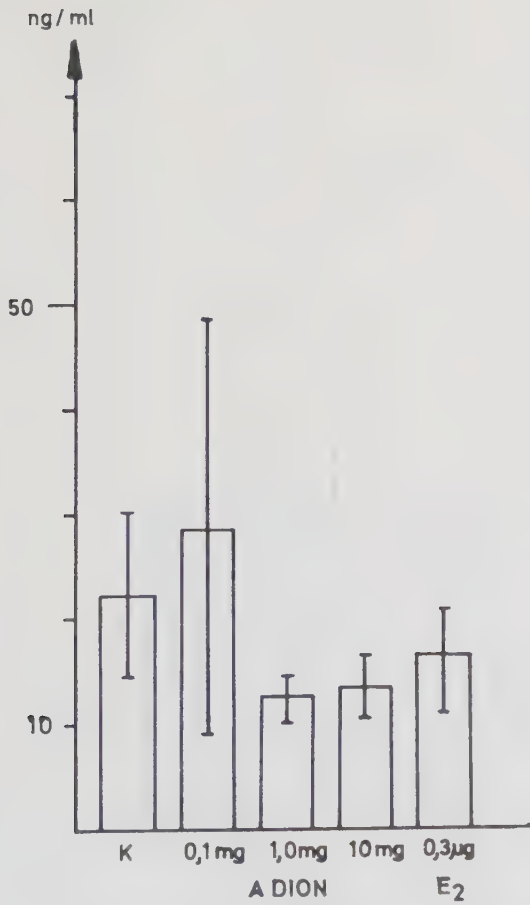
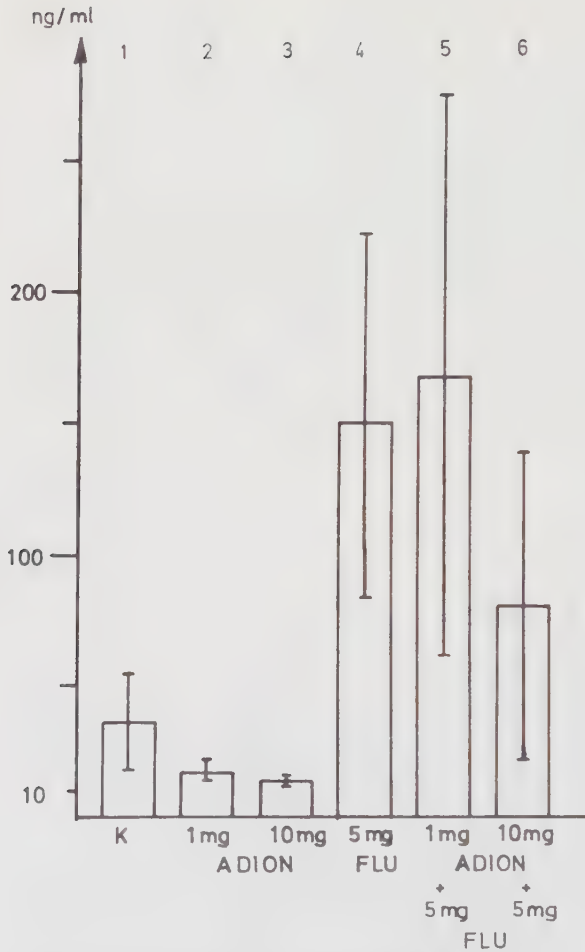


Abb. 47: LH-Konzentration V1



SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====

I	1	2	3	4	5
6 I	-	-	-	-	-
5 I	*	*	*	-	-
4 I	*	-	*	-	-
3 I	-	-	-	-	-
2 I	-	-	-	-	-

K R U S K A L - W A L L I S - T E S T

Abb. 48: LH-Konzentration V2

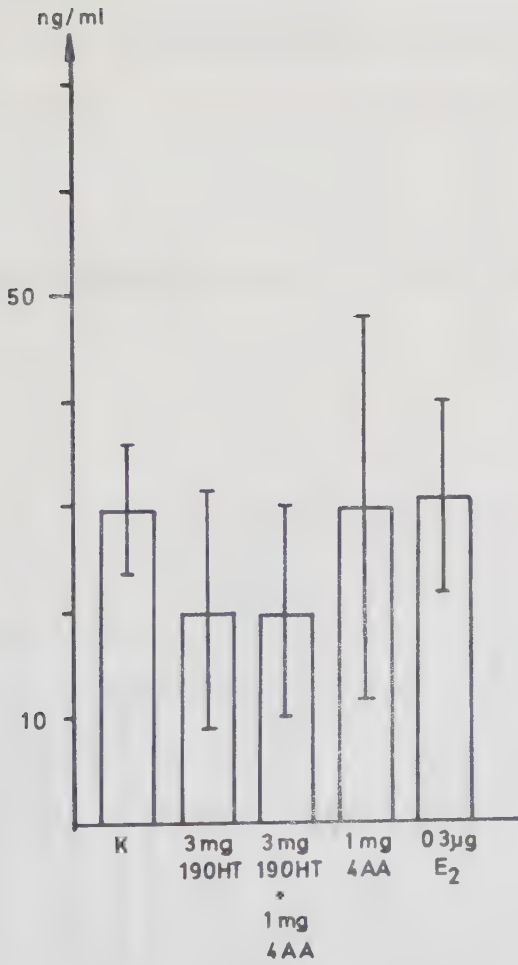


Abb. 49: LH-Konzentration V3

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====

	1	1	2	3	4	5	6	7	8
--	---	---	---	---	---	---	---	---	---

=====

9	1	-	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

8	1	-	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

7	1	*	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

6	1	-	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

5	1	*	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

4	1	-	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

3	1	-	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

2	1	-	-	-	-	-	-	-	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

=====

TUKEY - TEST

MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

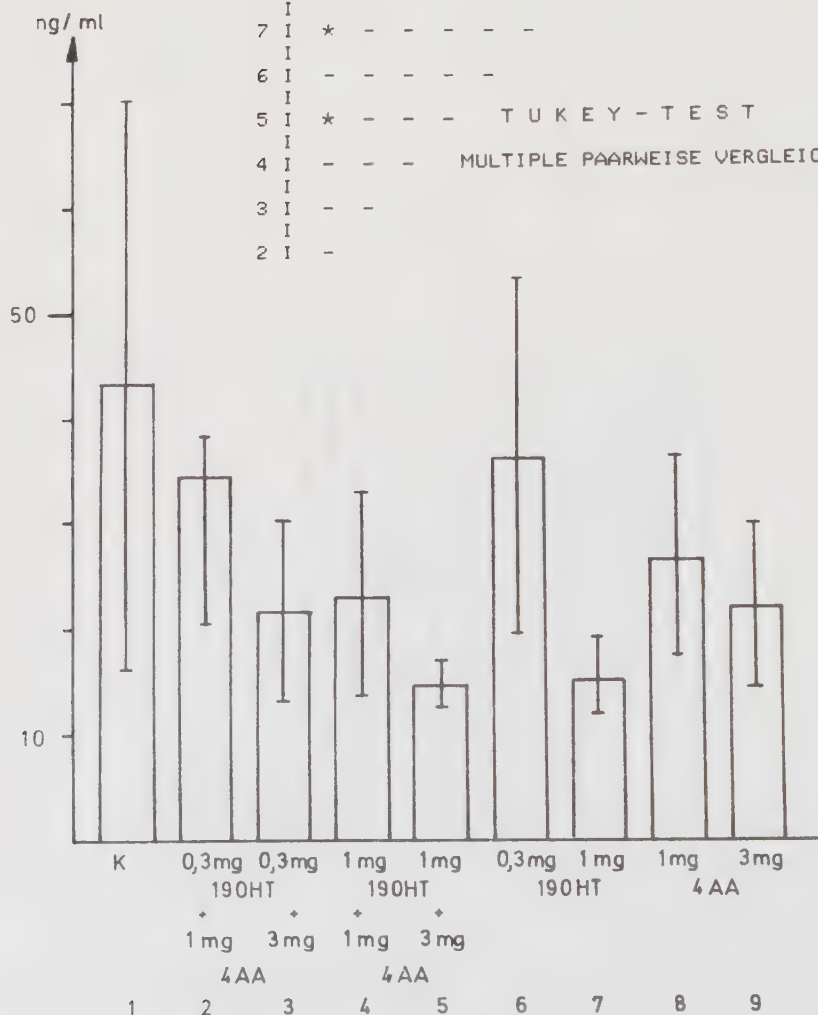


Abb. 50: LH-Konzentration V4

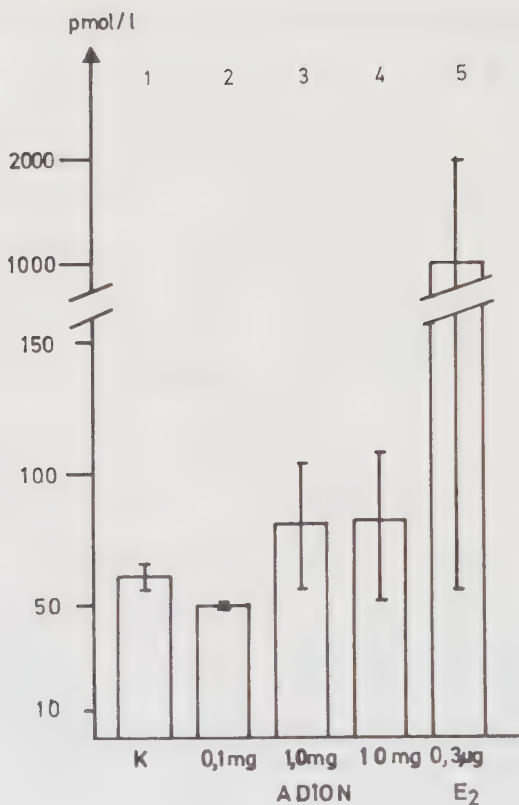
sich zwar durch zusätzliche Gabe von 1 mg des Aromatasehemmers 4-Acetoxy-androstendion teilweise aufheben, doch verglichen mit der Kontrollgruppe war LH immernoch stark vermindert. Bei Kombination mit 3 mg 4-Acetoxy-androstendion waren die gemessenen Werte wieder stärker verringert. In der Dosierung von 0,3 mg bewirkte 19-OH-Testosteron ein mäßiges Absinken der Gonadotropinwerte, daß durch den Zusatz des Aromatasehemmers entweder verstärkt (3 mg 4-Acetoxy-androstendion) oder aber unbeeinflußt blieb (1 mg 4-Acetoxy-androstendion). Die alleinige Verabreichung des Aromatasehemmers führte zu einer zum Teil beträchtlichen Konzentrationsminderung der Gonadotropine, die bei der 3 mg Dosis stärker war als bei 1 mg 4-Acetoxy-androstendion, statistisch jedoch nicht signifikant.

Die LH-Konzentrationen bei den erwachsenen Ratten des ersten Versuches blieben durch östradiol (1 µg/d) und Androstendion in niedrigen Dosen unbeeinflußt. Erst bei 10 mg Androstendion sanken die Serumkonzentrationen signifikant unter die Kontrollwerte.

3.2. östradiol

Bei den östradiolkonzentrationen konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden: Im ersten Versuch hatte die Applikation verschiedener Dosen Androstendion keine wesentliche Änderung der im Serum gemessenen Werte zur Folge (s. Abb. 51). Erwartungsgemäß hohe Werte wurden bei den Tieren bestimmt, die mit östradiol behandelt wurden.

Im dritten und vierten Versuch wichen bei Applikation der Monosubstanzen (19-OH-Testosteron und 4-Acetoxy-androstendion)



T U K E Y - T E S T

M U L T I P L E P A A R W E I S E V E R G L E I C H E

S I G N I F I K A N Z T A B E L L E (A L P H A = 5.0 %)

=====

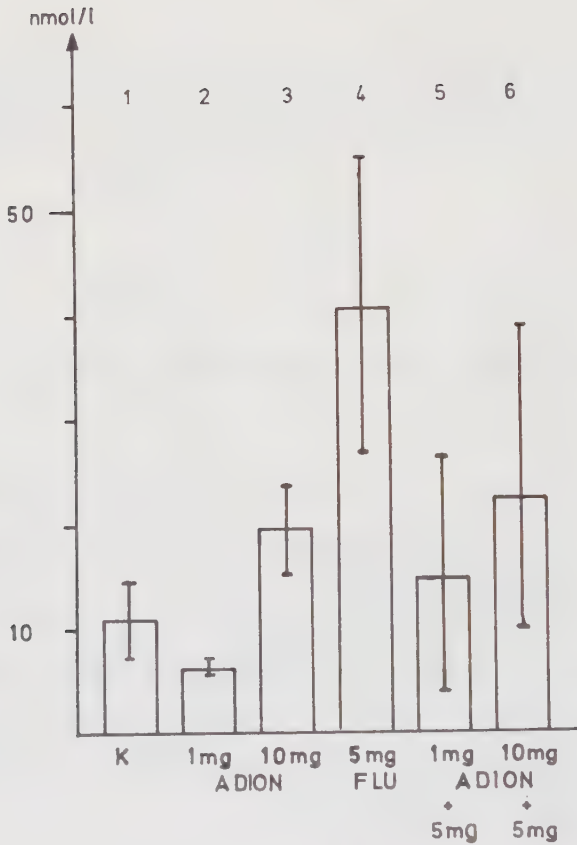
	1	2	3	4
5	*	*	*	*
4	-	-	-	
3	-	-		
2	-			
1				

Abb. 51: Östradiol-Konzentration V1

die gemessenen Konzentrationen nicht von den Kontrollwerten ab, die kombinierte Gabe verursachte so starke Schwankungen der Meßwerte, daß diese aus diesem Grunde nicht verwertbar waren.

3.3. Testosteron

Im zweiten Versuch führte die alleinige Verabreichung von 1 mg Androstendion zu erniedrigten Testosteronkonzentrationen im Hodenzytosol. Diese Veränderung war nicht signifikant und konnte durch den Zusatz von 5 mg Flutamid rückgängig gemacht werden (s. Abb. 52). 19-OH-Testosteron in einer Dosis von 10 mg/d bewirkte erhöhte Testosteronkonzentrationen verglichen mit den Kontrolltieren. Die Kombination mit 5 mg Flutamid vermochte die Meßwerte zusätzlich zu erhöhen. Signifikant waren die beschriebenen Veränderungen nicht. Nur die Verabreichung von Flutamid als Monosubstanz führte zu signifikant höheren Hormonkonzentrationen im Hodenzytosol.



S C H E F F E - T E S T

MULTIPLE PAARWEISE VERGLEICHE

SIGNIFIKANZTABELLE (ALPHA = 5.0 %)

=====

I	1	2	3	4	5
6 I	-	-	-	-	-
I					
5 I	-	-	-	*	
I					
4 I	*	*	*		
I					
3 I	-	-			
I					
2 I	-				

Abb. 52: Testosteron-Konzentration V2

IV. Diskussion

Die Oligozoospermie ist die häufigste Fertilitätsstörung beim Mann (PIZZARO et al. 1980, SCHIRREN 1982). Eine Reihe von Ursachen dafür ist bekannt, z.B. Hodenatrophie infolge von Entzündungen oder Traumen, angeborene Hodenhypoplasie oder Nikotinabusus (SCHIRREN 1968). Ferner können, wie NEUMANN 1984 angab, verschiedene Medikamente eine Oligozoospermie zur Folge haben: Chemotherapeutika, Antibiotika, Steroide, Antihypertensiva, Psychopharmaka u.v.a. Daneben gibt es einen gewissen Prozentsatz von Patienten, bei denen sich bis jetzt keine Ursache finden ließ. Für diese ätiologisch unklaren Fälle werden verschiedene Erklärungsmodelle herangezogen. Ein Hauptaugenmerk bei dieser sog. idiopathischen Oligozoospermie richtet sich dabei auf die intratestikuläre Hormonzusammensetzung.

Der Hoden ist neben der Synthese von Androgenen zur Bildung von Östrogenen befähigt. Zwar machen diese nur 0,02% der testikulären Steroidhormonproduktion aus (VALLADARES und PAYNE 1979, ROMMERTS et al. 1982), doch da bekannt ist, daß sie über einen direkten lokalen Feedback die Funktion des Hodens beeinflussen können, stehen sie im Mittelpunkt des Interesses.

VIGERSKY und GLASS führten 1981 bei Männern mit idiopathischer Oligozoospermie eine Therapiestudie mit einem Aromatasehemmer (Δ^1 -Testolacton) durch. Der Ansatz dafür war die Vermutung, daß intratestikulär erhöhte Östrogene (FORTI et al. 1981) Ursache der Fertilitätsstörung bei diesen Patienten seien. Die Aromatase ist das Enzym, das für die Umwandlung der Androgene in Östrogene verantwortlich ist. Mit der Blockierung der Enzymaktivität hoffte man, durch eine Senkung der intratesti-

kulären Östrogenspiegel die Fertilität steigern zu können. Der Ort der Östrogensynthese war lange Zeit umstritten. DE JONG et al. (1974) und DORRINGTON und ARMSTRONG (1975) gaben die Sertoli-Zelle als Ursprung an, Untersuchungen von ROMMERTS et al. (1978), VERHOEVEN et al. (1979), VAN DER MOLEN (1981) und BENHAMED et al. (1982) untermauerten diese These. Dagegen sahen CANICK et al. (1979) und VALLADARES und PAYNE (1979) in der Leydig-Zelle die Quelle der testikulären Östrogene. Die Diskussion ist nicht vollständig abgeschlossen, aber nach heutigen Erkenntnissen scheint es, daß der Ort der Östrogensynthese während der Reifung des Hodens wechselt (POMMERANTZ 1979, ROMMERTS et al. 1982). ROMMERTS und BRINCKMANN (1981) vermuten einen Zusammenhang mit der Entstehung der Blut-Hoden-Schranke. In Versuchen an Ratten konnte bei adulten Tieren die höchste Aromataseaktivität und somit Östrogenproduktion in den Leydig'schen Zwischenzellen nachgewiesen werden, während sich bei infantilen Tieren die Sertoli-Zellen aktiv zeigten. Nicht nur die Zellen der Gonaden sind zur Synthese der weiblichen Hormone befähigt, auch peripher findet eine Östrogenproduktion statt. So wurde die Aromatase unter anderem im Fettgewebe (CLELAND et al. 1983) und in der Muskulatur (LONGCOPE 1982) nachgewiesen. Vorläufer der C18-Steroide ist dabei neben Testosteron das Androstendion, das u.a. von der Nebennierenrinde gebildet wird (HEMSELL et al. 1974, 1977). Bis jetzt ist es nicht gelungen, ein einfaches Tiermodell aufzubauen, an dem die Wirkung der Aromatasehemmer bei der Oligozoospermie geprüft werden kann. Dafür muß ein geeignetes Versuchstier gefunden werden, dem eine Substanz appliziert wird, die als Vorstufe der Östrogene von der Aromatase umgewandelt

werden kann. Steigen nach Gabe dieses Precursors die C18-Steroide an und verursachen die bekannten Störungen der Spermatogenese, so kann man in einem zweiten Schritt den zu testenden Aromatasehemmer applizieren. Die Wirksamkeit der untersuchten Substanz läßt sich durch die Normalisierung der Spermatogenese feststellen.

In der hier durchgeführten Studie wird der Ratte als einem der gebräuchlichsten Labortiere Androstendion als Precursor angeboten, ein Stoff, der als Vorstufe der Aromatisierung sowohl bei Primaten und Menschen (MAC DONALD et al. 1967, SIITERI und MAC DONALD 1973, THOMPSON und SIITERI 1974b, SIITERI und THOMPSON 1975, CANICK und RYAN 1976, SCHWEICKERT 1980, FISHMAN und GOTO 1981, FISHMAN und RAJU 1981, BRODIE et al. 1983) als auch bei Schweinen (CANICK und RYAN 1976, RAESIDE und LOBB 1984) bekannt ist. Ziel des ersten Versuches ist die Ermittlung der optimalen Androstendiondosis, wobei drei verschiedene Dosen (0,1; 1,0; 10 mg/d) getestet werden. In dieser Versuchsreihe werden sowohl infantile Tiere als auch erwachsene Ratten eingesetzt.

Doch statt des erwarteten Östrogeneffektes, der anzeigen würde, daß Androstendion tatsächlich aromatisiert wird, tritt in diesem Versuch die androgene Wirkung des Androstendions hervor. Es kommt an den androgenabhängigen akzessorischen Geschlechtsorganen zu einer Gewichtszunahme und zum Absinken der LH-Konzentrationen im Serum. Bei der mittleren Androstendiondosis ist bereits eine erhebliche Gewichtszunahme der Prostata und Samenblase zu messen und bei der hohen Androstendiondosis sind diese Veränderungen noch ausgeprägter. Durch den peripheren Androgenüberschuss erreicht die Samenblase fast das 20-

fache und die Prostata des Viereinhalbfache des Normalgewichtes (damit werden annähernd die relativen Werte der adulten Tiere erreicht). Auch der androgenabhängige Nebenhoden wird in Größe und Gewicht verdoppelt.

Die Abnahme der LH-Konzentrationen im Serum, die auch von LABRIE et al. (1978) nach Androgentherapie beschrieben wurde, wird durch das Vortäuschen eines Androgenüberschusses auf der Ebene des Hypothalamus und der Hypophyse mit konsekutiver Gegenregulation erklärt. Die bereits bei der mittleren Androstendiondosis absinkenden LH-Werte führen nachfolgend zu einer Verringerung der Leydig-Zellen. Aufgrund der damit verbundenen Minderproduktion von Testosteron wird indirekt die Spermiogenese beeinflusst. Die für eine regelrechte Reifung notwendige hohe Androgenkonzentration im Tubuluslumen wird nicht erreicht und die Entwicklung der Spermien bleibt auf der Stufe der Spermatiden stehen, d.h. die Spermiogenese ist gestört.

Bei der hohen Androstendiondosis ist die Konzentration des Androgens im Hoden so hoch, daß eine komplette Ausreifung der Spermien, d.h. eine regelrechte Spermiogenese erfolgt. Da histologisch kaum Leydig-Zellen nachweisbar sind, also die körpereigene Testosteronproduktion hochgradig eingeschränkt ist, ist dies nur über eine Substitution durch das exogen zugeführte Androstendion zu erklären. Die biologische Wirksamkeit des Androstendions macht nach Angaben von ROSNESS und EIK-NES (1977) ein Fünftel bis ein Zwanzigstel des Testosterons aus.

Im Gegensatz zu den eindrucksvollen Veränderungen bei den infantilen Tieren sprechen die adulten Ratten nur wenig auf das applizierte Androstendion an. Lediglich bei der hohen Dosis

sind signifikante Gewichtszunahmen der Prostata und der Samenblase zu beobachten und histologisch ist eine geringgradige Beeinflussung der Spermiogenese in den etwas atrophierten Tubuli sowie eine Reduktion der Leydig-Zellen zu erkennen. Aus diesem Grunde werden in den folgenden Versuchen nur noch die sensibleren infantilen Ratten als Versuchstiere eingesetzt.

Um die Androgenität des Androstendions zu demonstrieren, wird in der folgenden Versuchsserie ein Antiandrogen appliziert, das die Effekte des Androstendions antagonisiert.

Das verwendete Flutamid ist eine von vielen Arbeitsgruppen NERI et al. 1972, MAINWARING 1977, NEUMANN et al. 1977, 1980, 1982, SCHENCK und NEUMANN 1978, BRUCHOVSKY 1980) untersuchte, rein antiandrogene Substanz ohne antiöstrogene oder -gestagene Nebeneffekte (NERI 1977).

Wie sich im zweiten Versuch zeigt, ist Flutamid in der Lage, die durch das Androstendion hervorgerufenen Veränderungen vollständig aufzuheben. Der beobachtete Gewichtsanstieg der Prostata und Samenblase bleibt aus, denn als kompetitiver Antagonist (MAINWARING 1977) besetzt Flutamid die peripheren Androgenrezeptoren und verhindert damit eine Interaktion mit Androstendion. Der wachstumsfördernde Effekt des Androgens entfällt.

Neben den peripheren Einflüssen wird auch die zentrale Wirkung sichtbar. Während unter Androstendion ein Androgenüberschuß herrscht, wird durch die Antagonisierung mit dem Antiandrogen auf der hypothalamisch-hypophysären Ebene ein Mangel vorge-täuscht (NEUMANN et al. 1977, 1980, 1982, SCHENCK und NEUMANN 1978b). Gegenregulatorisch kommt es zu einer vermehrten Sekretion von LH mit eindrucksvoller Hyperplasie der Zielzelle im

Hoden, der Leydig'schen Zwischenzelle.

Die Spermatogenese belegt ebenfalls die Blockierung der androgenen Komponente. Im Vergleich zum ungestörten Ablauf unter Substitution mit 10 mg Androstendion verursacht die gleichzeitige Gabe von Flutamid eine Reifungsstörung. Dabei ist auffällig, daß an den androgenabhängigen akzessorischen Drüsen bei dieser Dosiskombination schon wieder ein Wirkungsausgleich eintritt, der sich in Organgewichten manifestiert, die sich nicht mehr von denen der Kontrolltiere unterscheiden. Weiterhin ist bemerkenswert, daß die Beeinträchtigung der Spermatogenese bei 10 mg Androstendion plus 5 mg Flutamid etwas stärker ist, als bei 1 mg Androstendion plus 5 mg Flutamid, obwohl doch mehr Androgen angeboten wird. Für diese Beobachtung sind mehrere Erklärungen möglich. Zum einen ist es denkbar, daß durch das Antiandrogen eine ebenfalls vorhandene östrogene Komponente des Androstendions demaskiert wird. Diese könnte zu einer zusätzlichen Störung der Spermiogenese führen und würde aufgrund der höheren Konzentration bei der hohen Androstendiondosis stärker ausgeprägt sein. Für eine Demaskierung der östrogenen Komponente spricht weiterhin, daß trotz hoher LH-Konzentrationen im Serum im Hodenzytosol nicht wesentlich vermehrt Testosteron gefunden wird, obwohl die Leydig-Zellen in Größe und Anzahl zugenommen haben. Eine Erklärung ist die von vielen Autoren (u.a. DUFAU et al. 1978, SAEZ et al. 1978, CIGORRAGA et al. 1980, MOGER 1980) nach Applikation von östrogenen beschriebene Abnahme der oberflächlichen LH-Rezeptoren auf den Leydig-Zellen. (Auf diesen Feedbackmechanismus, über den die östrogene die Ansprechbarkeit des Hodens auf Gonadotropine lokal direkt beeinflussen, wird später eingegangen).

Die zweite Erklärung für die stärkere Beeinträchtigung der Spermatogenese bei der Kombination mit der höheren Androstendiondosis ist möglicherweise, daß durch das Antiandrogen die Androgenrezeptoren in verschiedenem Ausmaß blockiert werden. In experimentellen Untersuchungen konnte NEUMANN (1966) zeigen, daß die antigonadotrope Wirkung kleiner Dosen eines Androgens durch das Antihormon aufgehoben werden kann, während bei hohen Androgendosen die zentrale Hemmwirkung nicht mehr durch Antiandrogene zu blockieren ist. Dagegen mindert das Antihormon aber in der Peripherie, also am Hoden, die stimulierenden Einflüsse des Androgens. Das bedeutet, daß in den Versuchen die Substitution durch die hohe Androstendiondosis entfällt. Diese Vermutung wird durch die Tatsache bestärkt, daß die LH-Werte, die bei alleiniger Gabe von Androstendion gegenüber der Kontrolle verringert waren, bei der kombinierten Applikation von 1 mg Androstendion plus 5 mg Flutamid signifikant erhöht sind, während bei 10 mg Androstendion plus 5 mg Flutamid die Steigerung bedeutend geringer ausfällt. Ein anderer wichtiger Punkt zur Stützung dieser These sind die gemessenen Testosteronkonzentrationen im Hodenzytosol. Durch die Blockierung der Androgenrezeptoren im Hoden (Sertoli-Zellen, ABF-Bindungsstellen?) stehen trotz höherer Testosteronkonzentrationen weniger Androgene für die Spermatogenese zur Verfügung. Wahrscheinlich sind die in den Versuchen gemachten Beobachtungen durch Kombination beider Erklärungen zu verstehen, d.h. neben einer schwachen östrogenen Komponente des Androstendions, sind es Einflüsse des Antiandrogens Flutamid.

Einen Anhalt für eine ausgeprägte östrogene Wirkung des Andro-

stendions ergeben die bis zu diesem Punkt ermittelten Daten nicht. Auch die durchgeführte Östrogenbestimmung mittels RIA läßt die mangelnde Aromatisierung der eingesetzten Substanz demonstrieren, die gemessenen Östradiolkonzentrationen unterscheiden sich nicht von denen der Kontrollgruppe.

Nach den Ergebnissen der ersten beiden Versuche kann die Vermutung ausgesprochen werden, daß die Ratte, im Gegensatz zu anderen Tierspezies, kaum zur Aromatisierung des Androstendions befähigt ist. Diese Hypothese ist in der Zwischenzeit durch neuere Untersuchungen untermauert worden (NEUMANN, persönliche Mitteilung).

Um an dem Ziel festzuhalten, die Wirkung von Aromatasehemmern am Rattenhoden zu testen, wird in den weiteren Versuchen auf einen anderen Precursor der Aromatisierung übergangen: 19-OH-Testosteron (DORRINGTON et al. 1978, GORE-LANGTON et al. 1980). Diese in der Position 19 hydroxylierte Form des Testosterons ist eine Substanz, bei der der erste Schritt der Aromatisierung bereits durchlaufen ist (INANO et al. 1982).

Es werden drei verschiedene Dosen untersucht: 0,3; 1; 3 mg/d. Im Gegensatz zu den Untersuchungen mit Androstendion zeigen sich in den Versuchserien nun östrogene Effekte. Dabei übertreffen die Wirkungen des 19-OH-Testosterons aufgrund der eingesetzten Dosen teilweise die des exogen zugeführten Östradiols, also der positiven Kontrolle. Gegenüber der negativen Kontrolle, den unbehandelten Tieren, erfahren alle untersuchten Parameter signifikante Veränderungen.

In allen drei Konzentrationen ist bei Verabreichung des 19-OH-Testosterons eine signifikante Reduktion des Hodenge-

wichtiges zu beobachten. Der Effekt ist bei 1 mg/d maximal, die Steigerung der Dosis auf 3 mg/d bewirkt keine weitere Gewichtsabnahme.

Die histologischen Bilder korrelieren gut mit den Gewichtsveränderungen. Schon bei der niedrigen Dosis (0,3 mg) wird die Beeinträchtigung der Spermiogenese sichtbar. Reife Spermatozoen sind kaum noch zu finden. Dagegen ist die Meiose in den leicht atrophierten Tubuli nicht wesentlich alteriert. Die Verdreifachung der Dosis hat zur Folge, daß neben der Störung der Spermiogenese nun auch die Spermatogenese beeinflußt wird. In den atrophierten Tubuli fehlen reife Spermatozoen vollständig. Das Keimepithel ist sehr zellarm und enthält ausschließlich Zellen vor der Reifeteilung. Diese Befunde der zunehmenden Beeinträchtigung der Spermatogenese mit steigenden Hormondosen entsprechen den Ergebnissen von SCHENCK und NEUMANN (1978). Sie konnten - allerdings mit unterschiedlichen Antiandrogendosen - zeigen, daß es zum Stillstand der Spermatogenese auf immer früheren Entwicklungsstufen kommt, wenn dieser Reifungsprozeß hormonell gestört wird. Die androgenabhängige Reifeteilung (DAVIES et al. 1974, FRENCH et al. 1974) mit der Entstehung von Zellen mit haploidem Chromosomensatz ist sowohl bei 1 mg als auch bei 3 mg/d 19-OH-Testosteron hochgradig gestört, denn durch die applizierte Substanz besteht ein Mangel an intratestikulärem Androgen.

Als weiterer Hinweis für die unzureichende Qualität des Milieus in den Samenkanälchen ist der hohe Anteil degenerativer Veränderungen im Keimepithel zu werten.

Ferner deuten die in den Versuchsreihen festgestellten Gewichtsveränderungen der Prostata, Samenblase und Nebenhoden

auf den durch 19-OH-Testosteron provozierten Androgenmangel hin. Mit steigender Dosierung ist an den sekundären Geschlechtsorganen, die für ihr Wachstum und ihre Funktion männliches Hormon benötigen (NERI 1977, NEUMANN 1977), eine immer stärkere Größenreduktion festzustellen. Schon in der niedrigsten Dosierung zeigen sich an Prostata und Nebenhoden signifikante Gewichtsabnahmen und bei 1 mg/d wird der Gewichtsverlust auch bei der Samenblase relevant.

Die Beeinträchtigung der Gonadenfunktion durch östrogene wird über eine intratestikuläre Hemmung der Testosteronbiosynthese erklärt (MULDER et al. 1974, STEINBERGER et al. 1974b, BARTKE et al. 1977, CIGORRAGA et al. 1977, 1980, HSUEH et al. 1977, LIPSETT 1977, DUFAU et al. 1978, 1984, JONES et al. 1978, PURVIS und HANSSON 1978, SAEZ et al. 1978, VAN BEURDEN et al. 1978, VALLADARES und PAYNE 1979, FRÖHLICH 1980, KALLA et al. 1980, MOGER 1980, DONALDSON et al. 1981, NOZU et al. 1981a, 1981b, LEINONEN 1982, WAITES und GLADWELL 1982). Exogen zugeführte oder wie hier aus einem Precursor aromatisierte östrogene reagieren ebenso wie die im Hoden produzierten C18-Steroide mit östrogenrezeptoren der Leydig-Zellen. Derartige Bindungsstellen wurden von mehreren Arbeitsgruppen in den Zwischenzellen nachgewiesen (BRINCKMAN et al. 1972, CHOWDHURY et al. 1974, KATO et al. 1974, MULDER et al. 1974, VAN BEURDEN-LAMERS et al. 1974, ABNEY 1976, LIPSETT 1977, VAN BEURDEN et al. 1977, DUFAU et al. 1978, SATO et al. 1979, SOTO et al. 1979, CIGORRAGA et al. 1980, MOGER 1980, NOZU et al. 1981a, PURVIS et al. 1981, LEINONEN 1982, KÜHN-STAIß und VELTEN 1984). Sie besitzen zwar nur eine geringe Kapazität

(KALLA et al. 1980), dafür aber eine hohe Affinität für östrogene (VAN BEURDEN et al. 1976b, MOGER 1980). Nach Untersuchungen von NOZU et al. (1981a) finden sich pro Leydig-Zelle ca. 5000 solcher hochspezifischer Östrogenrezeptoren, an denen kein anderes Steroid binden kann. Nach erfolgter Bindung und Internalisation des Hormon-Rezeptor-Komplexes in den Zellkern wird die spezifische Östrogenwirkung entfaltet.

Die Östrogene greifen an den Enzymen der Testosteronbiosynthese an, indem sie die Aktivität der 17α -Hydroxylase und der C17,20-Lyase beeinträchtigen (VAN BEURDEN et al. 1976, 1978, VALLADARES und PAYNE 1979, CIGORRAGA et al. 1980, KALLA et al. 1980, DONALDSON et al. 1981, NOZU et al. 1981, ONADA und HALL 1981, PURVIS et al. 1981, ROMMERTS und BRINCKMANN 1981, DUFAU et al. 1984). Nach Untersuchungen von CIGORRAGA et al. (1980) und ONADA und HALL (1981) kommt es durch den Anstieg der intrazellulären Östrogene zu einer Blockierung der C17,20-Lyase und der 17α -Hydroxylase mit dem Aufstau der Substrate dieser Enzyme: 17α -Hydroxyprogesteron und Progesteron. ONADA und HALL vermuten nach ihren Versuchsergebnissen, daß primär die Blockierung der C17,20-Lyase durch die Östrogene erfolgt. Sie glauben, daß durch den Anstieg des 17α -Hydroxyprogesterons konsekutiv die 17α -Hydroxylase gehemmt wird, denn nach anderen von ihnen durchgeführten Untersuchungen (NAKAJIN et al. 1981) ist 17α -Hydroxyprogesteron ein potenter Inhibitor dieses Enzyms. Der so zu beobachtende Anstieg des 17α -Hydroxyprogesterons und des Progesterons konnte in Versuchen, die CATT et al. (1980), CIGORRAGA et al. (1980) und NOZU et al. (1981a) an Ratten durchführten, durch die Applikation von Tamoxifen, einem potenten Antiöstrogen, verhindert werden.

Dies wurde von den Autoren als Beweis für die These gewertet, daß die Hemmung dieser an der Steroidogenese beteiligten Enzyme durch intratestikuläre Östrogene bedingt ist. Da mit der Hemmung der beiden Enzyme sowohl der Δ^4 - als auch der Δ^5 -Syntheseweg (FRÖHLICH 1980) der Steroidogenese unterbrochen wird und auf diese Weise kein Ausweichen auf andere Stoffwechselwege möglich ist, wird die Hormonsynthese in den Leydig-Zellen erheblich beeinträchtigt. Infolge der verminderten Testosteronproduktion kommt es zu den beschriebenen Veränderungen der Spermiogenese und der androgenabhängigen Geschlechtsorgane.

Die Aufgabe der Östrogene wird heute in einer physiologischen Modulation der Hodenfunktion in Antwort auf die zentrale LH-Stimulation gesehen (AOKI und FAWCETT 1978, MARYNICK et al. 1979, MELNER und ABNEY 1979, MOGER 1980, NOZU et al. 1981a, PURVIS et al. 1981, DALTERIO et al. 1983). Die Möglichkeiten des Eingriffs sind vielfältig. Zum einen wird über einen kurzen Rückkopplungsmechanismus (short-loop-feedback) die Testosteronbiosynthese beeinflusst. Ein Teil des infolge der Gonadotropinstimulation gebildeten Testosterons wird in den Leydig-Zellen zu Östrogenen aromatisiert (DORRINGTON und ARMSTRONG 1979, CIGORRAGA et al. 1980). Über die oben erwähnte Hemmung einiger Schlüsselenzyme hemmen die Östrogene in der Leydig-Zelle direkt die Androgensynthese. Dabei behindern sie natürlich auch ihre eigene Produktion, da weniger Vorstufen für die Aromatisierung zur Verfügung stehen (ONADA und HALL 1981).

Daneben scheinen die Östrogene Mediatorfunktion (ROMMERTS und BRINCKMANN 1981) im Desensibilisierungsprozeß der Zwischenzellen gegenüber den Gonadotropinen zu haben (DUFAU et al.

1978, 1984, NOZU et al. 1981b). Diese Desensibilisierung, die sich als ein Nachlassen der testikulären Antwort auf eine längerdauernde LH-Stimulation (MATSUMOTO et al. 1983, QUINN und PAYNE 1985) manifestiert und mit einem Verlust der zellulären LH-Rezeptoren einhergeht (CIGORRAGA et al. 1978, 1980, DUFAU und CATT 1978, SAEZ et al. 1978, PURVIS et al. 1979a, BAMBINO et al. 1980, MOGER 1980, NAGLER et al. 1983), scheint durch östrogene vermittelt zu sein.

Die lokalen Östrogenkonzentrationen werden selbst über einen sog. "short-loop-feedback" reguliert. So wird das wirksame Östradiol intratestikulär zu dem weniger potenten Östron metabolisiert (ROBINETTE et al. 1978, LEINONEN 1982). Des Weiteren steuern die C18-Steroide möglicherweise die Produktion ihrer eigenen Rezeptoren (MULDER et al. 1974).

Neben den lokalen Feedbackmechanismen ist eine Beeinflussung der LH-Sekretion über einen langen Rückkopplungsmechanismus (long-loop-feedback) beschrieben worden (VAN BEURDEN et al. 1977, DONALDSON et al. 1981, DALTERIO et al. 1983, HASAN et al. 1983). THIEULANT et al. (1984) fanden, daß zirkulierende östrogene an speziellen Rezeptoren (MULDER et al. 1974) in der Hypophyse angreifen. Durch die von NAFTOLIN et al. (1971) im Hypothalamus beschriebene Aromatase werden nach Untersuchungen von DUNAIF et al. (1985) Androgene zu östrogenen konvertiert, die dann regulierend in die Hormonsekretion eingreifen. Nach Beobachtungen von WORGUL et al. (1981) ist für einen negativen LH-Feedback diese zentrale Aromatisierung wichtiger als die periphere.

Im Einklang mit der in der Literatur beschriebenen Minder-

sekretion des LH durch den zentralen Einfluß der Steroide, stehen die in den Versuchsreihen dieser Arbeit ermittelten LH-Werte. In der Dosierung von 0,3 mg/d 19-OH-Testosteron lassen sich zwar kaum Änderungen gegenüber der Kontrollgruppe feststellen, doch fallen bei Applikation von 1 mg/d des aromatisierbaren 19-OH-Testosteron die LH-Werte signifikant ab und es kommt zur Atrophie der Leydig'schen Zwischenzellen. Bei der 3 mg Dosis sind die Zwischenzellen zwar in der Anzahl und Größe verringert und die Serumkonzentrationen des LH liegen rund 30% unter den Kontrollwerten, doch sind diese Veränderungen nicht signifikant.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die entstehenden östrogene sowohl über einen lokalen als auch über einen zentralen Regelmechanismus modulierend auf die Androgensynthese wirken.

Die beobachteten östrogenen Effekte lassen sich durch die gleichzeitige Gabe eines Aromatasehemmers aufheben oder zumindest abschwächen.

Am eindrucksvollsten sind die Veränderungen der Spermatogenese. Der Aromatasehemmer 4-Acetoxy-androstendion vermag hier zu einer Restitution zu führen. Während es unter der ansteigenden Dosierung des 19-OH-Testosterons zu einer Beeinträchtigung der Spermiogenese und schließlich zum vollständigen Erliegen der Reifeteilung kommt, sind nun bei der gleichzeitigen Behandlung mit 4-Acetoxy-androstendion bei allen Tieren wieder Reifeteilungen vorhanden. Zum Teil ist eine altersentsprechende Spermiogenese zu beobachten.

Durch den Aromatasehemmer sinkt intratestikulär das östrogen

ab und infolgedessen entfallen die oben erwähnten hemmenden Einflüsse des weiblichen Geschlechtshormons. Das vermehrt gebildete Testosteron steht in den Tubuli in ausreichender Konzentration für die Spermiogenese zur Verfügung.

Daß dieser Effekt nicht durch den Aromatasehemmer allein, d.h. durch eine mögliche Androgenität des 4-Acetoxy-androstendions hervorgerufen wird, zeigt der Vergleich mit den nur mit 4-Acetoxy-androstendion behandelten Tieren.

Dieser 1978 erstmals von BRODIE et al. beschriebene Aromatasehemmer wird in den Versuchen in zwei unterschiedlichen Dosierungen (1 und 3 mg/d) verabreicht. Nach Untersuchungen von NISHINO (unveröffentlichte Daten) ist bei 4-Acetoxy-androstendion in dieser Dosierung die Hemmung der Aromatase am effektivsten. In höherer Konzentration appliziert, tritt eine androgene Eigenaktivität hervor - nach Angaben von BRODIE et al. (1983) weniger als 1% des Testosterons -, was sich in einer Gewichtszunahme vor allem der akzessorischen Geschlechtsorgane äußert.

In den Versuchsserien führt die niedrige Dosis (1 mg/d) bei keinem der bestimmten Parameter zu wesentlichen Veränderungen gegenüber den Kontrolltieren. In höherer Dosierung (3 mg/d) bewirkt der Aromatasehemmer eine Wachstumshemmung des Hodens, die histologisch mit einer Störung der Spermiogenese und einer reduzierten Zahl von Leydig-Zellen einhergeht. Entsprechend liegen die gemessenen LH-Werte unter den Kontrollwerten, wenn auch nur geringgradig. Dies bestätigt die Aussage von BRODIE et al. (1979b, 1983), daß der Aromatasehemmer 4-Acetoxy-androstendion eine antigonadotrope Wirkung hat. Durch das Absinken der LH-Werte und der Atrophie der Leydig-Zellen fehlt das

Androgen, das für eine regelrechte Spermatogenese nötig wäre. Eine androgene Wirkung des 4-Acetoxy-androstendion in dieser Dosierung ist unwahrscheinlich, da sich an den akzessorischen Drüsen auch bei der 3 mg Dosis keine Gewichtszunahme gegenüber den Kontrollen zeigt. Der Aromatasehemmer hat also relativ wenig Effekte bei Tieren, bei denen normale intratestikuläre Östrogenspiegel vorliegen.

Da 4-Acetoxy-androstendion die Hemmung der Spermatogenese durch das 19-OH-Testosteron aufhebt, sind die Tubuli wieder größer und am Gewicht der Hoden läßt sich eine Zunahme feststellen. Auch die Leydig-Zellen, die bei der Behandlung mit 1 mg 19-OH-Testosteron atrophiert und in ihrer Menge reduziert sind, sind bei der zusätzlichen Verabreichung des Aromatasehemmers wieder größer und in höherer Anzahl vorhanden. Da ein geringfügiges Ansteigen der LH-Werte im Serum zu messen ist, kann spekuliert werden, daß die zentrale Aromatisierung ebenfalls durch den Aromatasehemmer blockiert wird. Diese Vermutung wird durch die in-vitro Ergebnisse von DUNAIF et al. (1985) bestärkt. Damit entfielen der oben beschriebene negative Effekt der Östrogene auf die LH-Sekretion. Um diese These zu untermauern, hätte man Hormonspiegel in der Hypophyse und im Hypothalamus bestimmen können. Da diese Untersuchungen in dieser Arbeit nicht durchgeführt wurden, werden weitere Versuchsreihen folgen müssen, um Aufschluß über das Ausmaß der zentralen Wirkung des Aromatasehemmers zu geben.

Daß eine Steigerung der 4-Acetoxy-androstendiondosis zu keiner weiteren Erhöhung der LH-Werte führt, wird durch die Überlagerung der zentralen Aromatasehemmung und der antigonadotropen Eigenschaft des Aromatasehemmers erklärt, die BRODIE et al.

1983 bei ihren Untersuchungen feststellten. Bei der Behandlung von Ratten mit verschiedenen Aromatasehemmern konnten sie keinen Anstieg der LH-Konzentrationen ermitteln und postulierten deshalb einen antigonadotropen Effekt.

Nicht nur am Hoden ist die Folge der Hemmung der Aromatisierung zu demonstrieren, auch die peripheren Geschlechtsorgane, die durch fehlende männliche Hormone bei der Behandlung mit 19-OH-Testosteron atrophiert sind, erfahren eine Größenzunahme, die darauf hindeutet, daß im Blut wieder vermehrt Androgene zirkulieren.

So weisen die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen darauf hin, daß der Aromatasehemmer 4-Acetoxy-androstendion in der Lage ist, die durch 19-OH-Testosteron hervorgerufene Beeinträchtigung der testikulären Androgensynthese rückgängig zu machen.

Die in den Versuchsreihen bestimmten Serum-östrogenwerte können nicht zur Interpretation der Ergebnisse herangezogen werden, da es bei den Messungen zu Kreuzreaktionen zwischen den eingesetzten Substanzen und den Östrogenen am RIA kam. Nach Angaben von NEUMANN (persönliche Mitteilung) verfälschen Zwischenprodukte des Aromatisierungsprozesses die mit dem Radioimmunoassay ermittelten Östrogenkonzentrationen. Aus diesem Grunde wird auf eine Wiedergabe der Östrogenwerte der Versuche 3 und 4 verzichtet.

Nach Angaben von INANO et al. (1982) greifen die kompetitiven

Aromatasehemmer, und dazu wird 4-Acetoxy-androstendion gerechnet, am zweiten oder dritten Reaktionsschritt der Aromatisierung an, d.h. entweder am Step II, der 19-R-Hydroxylierung und Abspaltung von H_2O , oder am Step III, der Lösung der C10-C19-Bindung. Nicht beeinträchtigt wird nach ihren Angaben der erste Schritt, d.h. die Hydroxylierung am C-Atom Nr. 19, die bei der Applikation von 19-OH-Testosteron umgangen wird. Damit steht der Verabreichung dieser Substanz bei der Ratte nichts im Wege. Dieses Versuchstier ist zwar, wie sich in den Versuchsreihen zeigte, nicht oder nur in sehr geringem Umfang zur Aromatisierung des Androstendions fähig, kann dagegen aber das hydroxylierte Testosteron umwandeln.

Die hemmenden Einflüsse des 19-OH-Testosterons an den Geschlechtsorganen entfallen bei gleichzeitiger Gabe des Aromatasehemmers. Besonders markant waren die Veränderungen der Spermatogenese, wo es durch den Abfall der intratestikulären Östrogenspiegel und der damit einhergehenden Abschwächung der hemmenden Effekte zu einer Wiederherstellung des normalen Reifungsprozesses kam.

Viele Autoren (MULDER et al. 1974, VAN BEURDEN et al. 1976a, 1977, BARTKE et al. 1977, HSUEH et al. 1977, LIPSETT 1977, CIGORRAGA et al. 1978, 1980, DUFAU et al. 1978, 1979, 1980, JONES et al. 1978, SAEZ et al. 1978, MARYNICK et al. 1979, MELNER und ARNEY 1979, STEINBERGER et al. 1979, VALLADARES und PAYNE 1979, FRÖHLICH 1980, KALLA et al. 1980, MOGER 1980, DONALDSON et al. 1981, NOZU et al. 1981a, 1981b, ONADA und HALL 1981, PURVIS et al. 1981, ROMMERTS und BRINCKMAN 1981, WORGUL et al. 1981, BRINCKMAN et al. 1982, LEINONEN 1982,

DALTERIO et al. 1983, MATSUMOTO et al. 1983, NAGLER et al. 1983, KUHN-STAIß und VELTEN 1984, THIEULANT 1984, DUNAIF et al. 1985) beschreiben Feedbackmechanismen, mit denen östrogene die Androgensynthese modulieren: Zum einen lokal, d.h. entweder über eine Hemmung der Enzyme der Testosteronbiosynthese oder eine Beteiligung an der Desensibilisierung der Leydig-Zellen gegenüber LH durch Rezeptorenverlust (sog. down-regulation), zum anderen zentral über hypothalamisch-hypophysäre Regelkreise der Gonadotropinsekretion.

Um diese Thesen zu bestätigen und die Rolle, die Aromatasehemmer in der Therapie von Störungen dieser Regelkreise spielen können, zu überprüfen, fehlte es bislang an einem geeigneten Tiermodell.

Nach den Ergebnissen dieser Arbeit steht mit infantilen Ratten ein einfaches Tiermodell zur Verfügung, an dem sich die Effektivität einer solchen Therapie leicht testen läßt. Eine Normalisierung der Spermatogenese bei Tieren mit erhöhten intratestikulären östrogenspiegeln kann durch eine Behandlung mit Aromatasehemmern erreicht werden.

Die in der vorliegenden Studie erzielten Ergebnisse weisen darauf hin, daß der Einsatz von Aromatasehemmern in der Behandlung der männlichen Infertilität neue Therapiewege eröffnen könnte, wie dies bereits 1981 VIGERSKY und GLASS nach ihren Untersuchungen vermutet hatten.

V. Zusammenfassung

Es war das Ziel dieser Arbeit, in Versuchen mit infantilen Ratten ein Tiermodell aufzubauen, an dem sich die Effektivität von Aromatasehemmern testen läßt, die in der Therapie von Fertilitätsstörungen bei erhöhten intratestikulären Östrogenspiegeln eingesetzt werden könnten. Es ist bekannt, daß östrogene bei männlichen Tieren eine Beeinträchtigung der Reifungsvorgänge im Hoden verursachen können. Zum einen führen sie über zentrale Regelkreise zu einer Verminderung der Gonadotropinsekretion, die sich sekundär in einem peripheren Hormonmangel äußert, zum anderen hemmen sie direkt lokal die Androgensynthese (negativer lokaler Feedback).

Mit dem Aromatasehemmer stellten VIGERSKY und GLASS 1981 ein Therapiekonzept zur Diskussion, mit dem es nach ihrer Meinung gelingen sollte, einen Teil jener Männer mit sog. idiopathischer Oligozoospermie wieder fruchtbar zu machen, bei denen intratestikulär erhöhte Östrogenspiegel vermutet wurden. Bislang fehlte ein geeignetes Tiermodell, an dem diese Hypothese überprüft werden kann.

Infantile Ratten (21-23 Tage alt) wurden mit Androstendion behandelt, einer Substanz, die bei vielen Spezies (u.a. Mensch, Schwein) als Vorstufe der Aromatisierung bekannt ist. Im ersten Versuch, in dem Androstendion in drei verschiedenen Dosierungen (0,1; 1; 10 mg/d, sc.) appliziert wurde, zeigte sich aber ein typisch androgener Effekt dieser Verbindung. In der mittleren Dosis kam es bereits zu einer Suppression der zentralen Gonadotropinsekretion, die sich in einem Absinken der Konzentrationen des Luteinisierenden Hormons und in einer

Atrophie der LH-abhängigen Leydig-Zellen äußerte. Als Folge der mangelnden Androgenproduktion durch die Zwischenzellen war die Spermiogenese gestört. Gleichzeitig war an den androgenabhängigen Organen jedoch eine starke Gewichtszunahme zu beobachten. Die 10 mg Dosis verursachte exzessive Gewichtszunahmen. Während die Leydig-Zellen infolge der ausgeprägten Hemmung der LH-Sekretion fast vollständig fehlten, kam es in den Hodenkanälchen durch die hohe exogen zugeführte Menge des androgenwirkenden Hormons zu einer Substitution mit Wiederherstellung der normalen Spermiogenese.

In einem zweiten Versuch konnte die Androgenität des Androstendions durch Applikation eines Antiandrogens belegt werden. Flutamid (5 mg/d, sc.) war in der Lage, die Effekte des Androstendions zu antagonisieren. Die Spermiogenese normalisierte sich, die Zahl der Leydig-Zellen nahm zu und die Gewichtsanstiege der Prostata, Samenblase und des Nebenhodens blieben aus.

Um die mangelnde Aromatisierbarkeit des Androstendions zu umgehen, wurde in den folgenden Versuchen auf 19-OH-Testosteron übergegangen, eine Substanz, deren Aromatisierung bei der Ratte gesichert ist. Durch Applikation verschiedener Dosen (0,3; 1; 3 mg/d, sc.) konnte eine Störung der Spermiogenese erreicht werden, die zum einen auf erhöhte intratestikuläre Östrogenspiegel, zum anderen auf eine Hemmung der Gonadotropinsekretion durch eine zentrale Aromatisierung zurückgeführt werden konnte. Die Beeinflussung der Organfunktion durch den Überfluß an Östrogenen und dem damit verbundenen Androgenmangel war vor allem in den histologischen Schnitten zu demonstrieren. Es kam zu einer Unterbrechung der Spermiogenese auf

Entwicklungsstufen vor der Reifeteilung. Daneben belegten die Organgewichte den Androgenmangel, da sie z.T. erheblich niedriger als die Kontrollwerte waren.

Durch die Behandlung mit dem Aromatasehemmer 4-Acetoxy-androstendion, der in zwei Dosierungen appliziert wurde (1; 3 mg/d, sc.), konnten die, durch 19-OH-Testosteron hervorgerufenen Störungen der Hodenfunktion aufgehoben werden. Die eindrucksvollsten Veränderungen waren in der Hodenhistologie zu sehen. Die durch 19-OH-Testosteron verursachte Reifungsstörung mit einer Unterbrechung auf prämeiotischen Stufen wurde durch den Zusatz von 4-Acetoxy-androstendion rückgängig gemacht, d.h. es traten wieder Reifungsteilungen auf. Die Zahl der Leydig-Zellen nahm zu und auch die Gewichtsreduktion der akzessorischen Drüsen war durch die Gabe des Aromatasehemmers zu verhindern.

Die alleinige Verabreichung des Aromatasehemmers blieb im wesentlichen ohne Einfluß auf die Organe, lediglich bei der hohen Dosierung zeigte sich am Hoden ein androgener Effekt.

Nach den vorliegenden Ergebnissen kann die Annahme bestätigt werden, daß erhöhte intratestikuläre Östrogenspiegel für Störungen der Spermiogenese verantwortlich sind und sich mit einem Aromatasehemmer therapieren lassen. Diese Arbeit erstellt mit den infantilen Ratten ein Tiermodell, an dem die Überprüfung einer solchen Therapie möglich ist.

VI. Summary

In the treatment of the most common male fertility disorder, the idiopathic oligozoospermia, a promising new approach was made in 1981 . VIGERSKY and GLASS treated men with an aromatase inhibitor (Δ^4 -testolactone) and thereby increased the fertility in their patients. The idea behind this type of therapy was a supposed elevation of testicular estrogens. Estrogens are believed to block the generative function of the testis either by a direct local feedback mechanism or by central inhibition of secretion of gonadotropins. The aromatase is an enzyme involved in the synthesis of estrogens. To proof this hypothesis infantile rats (21-23 d) were tried as an animal model in this study.

At first they were given androstendione (0,1; 1; 10 mg/d,sc.), a substance known to be aromatized in many species. But instead of the estrogenic effect an androgenic effect was found with an increase of weight of the accessory sex organs and the typical alterations of spermatogenesis. These effects were reversible when an antiandrogen (flutamide, 5 mg/d, sc.) was administred. An other substance then used was 19-OH-testosterone (0,3; 1;3 mg/d, sc.) known to be converted by the aromatase in rats. The administration of this substance produced an elevation of serum-estrogens.

The concentration of several hormones (LH, estradiol, testosterone) was measured in serum and testicular cytosol. The impairment of spermatogenesis was confirmed histologically.

The administration of 4-acetoxy-androstendione (1; 3 mg/d,

sc.) an aromatase inhibitor, reversed the effects of estrogens. The generative function improved.

These findings indicate that high levels of intratesticular estrogens play a role in some kind of oligozoospermia which may be treated successfully by aromatase inhibitors. This study furthermore establishes an animal model for the testing of new substances in the treatment of male infertility.

VII. Literaturverzeichnis

Abney, T.O.: A cytoplasmatic estradiol receptor in the rat testicular tissue.

Endocrinology 99: 555, 1976

Abul-Hajj, Y.: Studies on the mechanism of action of the aromatase inhibitor 4-hydroxy-androstendion

Steroids 41: 783-790, 1983

Ahmad, N., Warren, D.W.: In vivo effects on spermatogenesis and in vitro metabolism of 5α -androstan- 3β , 17β -diol by the testis, prostate glands and seminal vesicles.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978: 494-505

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D.: Molecular biology of the cell. Garland Publishing Inc. New York and London 1983

Aoki, A., Fawcett, D.: Is there a local feedback from the seminiferous tubules affecting activity of the Leydig cells?

Biology of Reprod. 19: 144-158, 1978

Baker, H., Bremner, W., Burger, G., De Kretser, D.M., Dulmanis, A., Eddie, L.W., Hudson, B., Keogh, E.J., Lee, V.W.K., Rennie, G.C.: Testicular control of FSH-secretion.

Rec. Prog. of Horm. Res. 32: 429-466, 1976

Bambino, T.H., Schreiber, J.R., Hsueh, A.J.W.: Gonadotropin-releasing-hormone and its agonist inhibit testicular Luteinizing hormone receptor and steroidogenesis in immature and adult hypophysectomized rats.
Endocrinology 107:908-917, 1980

Barone, R., Shamoniki, I., Judd, H.J.: Inhibition of peripheral aromatization of androstendione to estrogen in postmenopausal women with breast cancer using Δ^1 -Testolactone.
J. of Clin. Endocrinol. Metabol. 49: 672-676, 1979

Bartke, A., Williams, K.I.H., Dalterio, S.: Effects of estrogens on testicular testosterone production in vitro.
Biol. of Reprod. 17: 645-649, 1977

Bellino, F.L., Gilani, S.S.H., Eng, S.S., Osawa, Y., Duax, W.L.: Active site inactivation of aromatase from human placental microsomes by brominated androgen derivatives.
Biochemistry 15: 4730-4736, 1976

Benhamed, M., Bernier, M., Ducharme, J., Saez, J.: Steroidogenesis of cultured purified pig Leydig cells: secretion and effects of estrogens.
MEC 28: 705-716, 1982

Braselton, W.E., Engel, L.L., Orr, J.C.: The flux of intermediates and products in aromatization of C19-steroids in human placental microsome.
Eur. J. Biochem. 48: 35-43, 1974

Braun, T. : Evidence for multiple, cell specific, distinctive Adenylat cyclase systems in rat testis.

Current topics in molecular endocrinology I: Hormone binding and target cell activation in the testis. Eds.: Dufau, M.L., Means, A.R.. Plenum Press, New York and London 1974: 243f.

Breckwoldt, M.: Side-effects and contraindications of treatment with anti-androgens.

Androgenization in women. Lectures and discussion of a Symposium . Eds.: Hammerstein, J., Lachnit-Fixon, U., Neumann, F., Flewig, G. Excerpta Medica, Amsterdam 1980: 266- 275

Brinckman, A., Leeborg, I., Rommerts, F., Van der Molen, H.: Translocation of the testicular estradiol receptors is not an obligatory step in the gonadotropin-induced inhibition of C17,20-Lyase.

Endocrinology 110: 1834-1836, 1982

Brinckman, A. O., Mulder, E., van der Molen, H.J.: Récepteur testiculaire de l'oestradiol chez le rat.

C. R. Acad. Sci. Ser. D. 274: 3106, 1972

Brodie, A.: Overview of recent development of aromatase inhibitors.

Cancer research 42(Suppl.): 3312s-3314s, 1982

Brodie, A.: Therapeutical approach to endocrin-dependent tumors.

International congress: Endocrinology 1985, Torino, June 5-8, 1985, Abstract No. 47

Brodie, A.M.H., Brodie, H.J., Garrett, W.M., Hendrickson, J.R., Marsh, D.H., Tsai-Morris, C.H.: The effect of aromatase inhibitor: 1,4,6-Androstendione (ATD) on DMBA-induced mammary tumors in the rat and its mechanism of action in vitro.

Biochem. Pharmacol. 31: 2017-2023, 1982

Brodie, A.M.H., Garrett, W.M., Hendrickson, J.R., Marcotte, P.A., Robinson, C.H.: Inactivation of aromatase activity in placental and ovarian microsomes by 4-hydroxy-androstendione and 4-acetoxy-androstendione.

Steroids 38:693-702, 1981

Brodie, A.M.G., Garrett, W.M., Hendrickson, J.R., Tsai-Morris, C.H., Williams J.G.: Aromatase inhibitors, their pharmacology and application.

J. Steroid Biochem. 19: 53-58, 1983

Brodie, A.M.G., Longcope, C.: Inhibition of peripheral aromatization by aromatase inhibitors, 4-hydroxy- and 4-acetoxy-androstendione.

Endocrinology 106: 19-21, 1980

Brodie, A.M.G., Marsh, D., Brodie, H.J.: Aromatase inhibitors IV: Regression of hormone-dependent mammary tumors in the rat with 4-acetoxy-androstendione.

J. Steroid Biochem. 10: 423-429, 1979b

Brodie, A.M.G., Marsh, D., Wu, J., Brodie, H.J.: Aromatase inhibitors and their use in controlling oestrogen-dependent processes.

J. Steroid Biochem. 11: 107-112, 1979

Brodie, A.M.G., Schwarzel, W.C., Shaikh, A.A., Brodie, H.J.: The effect of an aromatase inhibitor 4-hydroxy-4-androstene-3,17-dione on estrogen dependent processes in reproduction and breast cancer.

Endocrinology. 100: 1684-1694, 1977

Brodie, A.M.G., Wu, J., Marsh, D., Brodie, H.J.: Aromatase inhibitors III: Studies on the antifertility effect of 4-acetoxy-androstendione.

Biol. of Reprod. 18: 365-370, 1978

Bruchovsky, N.: Molecular action of androgens and antiandrogens.

Androgenization in women. Lectures and discussion of a Symposium Berlin, Febr. 1979, Excerpta Medica, Amsterdam 1980: 7-20

Brueggemeier, R.W., Floyd, E.E., Counsell, R.E.: Synthesis and biochemical evaluation of inhibitors of estrogen biosynthesis. J. Med. Chem. 21: 1007-1011, 1978

Brueggemeier, R.W., Snider, C.E., Kimball, J.D.: A photoaffinity inhibitor of aromatase. Steroids 40: 679-689, 1982

Bullock, L.P., Bardin, C.W.: Androgen-insensitive animals as a tool for understanding the mode of androgen action. Androgen und Antiandrogen. Eds.: Martini, L., Motta, M. Raven Press, New York 1977:91f

Burgos, M.H., Vitale-Calpe, R., Aoki, A.: Fine structures of the testis and its significance.

The Testis, Vol I. Eds. Johnson, A.D., Gomes, W.R., Vandemark, N.L. Academic Press, New York, London, 1970 : 551-649

Byrkow, A.G.: Regulation of initiation of meiosis in fetal gonads.

Endocrine approach to male contraception. Eds. Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 29-38

Canick, J.A., Ryan, K.J.: Cytochrome P450 and the aromatization of 16α -OH-testosterone and androstendione by human placental microsomes.

Molec. cell. Endocr. 6: 105-115, 1976

Catt, K.J., Tsurahara, T., Mendelson, C., Ketelslegers, J.M., Dufau, M.L.: Gonadotropin binding and activation of the interstitial cell of the testis.

Current topics in Molecular Endocrinology. Eds. Dufau, M.L., Means, A.R. Plenum Press New York, London, 1974, Vol 1 : 2 ff.

Cheng, C., Frick, J., Gunsalus, G., Musto, N.A., Bardin, W.: Human testicular androgen-binding protein shares immunodeterminants with serum testosterone-binding-globulin. Endocrinology 114: 1395 ff., 1984

Chowdhury, M., Tcholakian, R., Steinberger, E.: An unexpected effect of estradiol-17 β on LH and testosterone. J. Endocr. 60: 375-376, 1974

Cigorrage, S.B., Dufau, M.L., Catt, K.J.: Regulation of LH-receptors and steroidogenesis in gonadotropin-desensitized Leydig cells. J. Biol. Chem. 253: 4297-4304, 1978

Cigorrage, S.B., Sorrell, S., Bator, J., Catt, K.J., Dufau, M.L.: Estrogen dependence of a gonadotropin-induced steroidogenic lesion in rat testicular Leydig cells. J. Clin. Invest. 65: 699-705, 1980

Cleland, W., Mendelson, C., Simpson, E.: Aromatase activity of membrane fraction of human adipose tissue stromal cells and adipocytes. Endocrinology 113: 2155-2160, 1983

Conti, M., Harwood, J.P., Hsueh, A.J.W., Dufau, M.L., Catt, K.J.: Gonadotropin-induced loss of hormone receptors and desensitization of adenylate cyclase in the ovary.

J. Biol. Chem. 251: 7729 ff., 1976

Courot, M., Hochereau-de Reviers, M.T., Ortavant, R.:
Spermatogenesis

The Testis, Vol I. Eds. Johnson, A.D., Gomes, W.R.,
Vandemark, N.L. Academic Press, New York, London, 1970

Covey, D.F., Hood, W.F., Parikh, V.D.: 10 β -Propynyl-substituted
steroids .

J. Biol. Chem. 256: 1076 f., 1981

Cunningham, G.R., Silverman, V., Kohler, P.O.: Gonadotropin
suppression in normale males and males with primary
hypogonadism: evaluation of four androgens.

Endocrine approach to male contraception. Eds. Hansson, V.,
Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978
: 720-730

Dada, M., Campell, G., Blake, C.: The localisation of
gonadotrophs in normal adult male and female rats.

Endocrinology 114: 397, 1984

Dalterio, S., Bartke, A., Brodie, A., Mayfield, O.: Effects of testosterone, estradiol, aromatase inhibitor, gonadotropin and prolactin on the response of mouse testis to acute gonadotropin stimulation.

J. Steroid Biochem. 18: 391-396, 1983

Dao, T.: Estrogen synthesis in human breast tumor and its inhibition by Testolactone and Bromandrostandione.

Cancer Research 42 (Suppl.): 3338s-3341s, 1982

Davies, A., Courot, M., Gresham, P.: Effects of testosterone and FSH on spermatogenesis in adult mice during treatment with estradiol.

J. Endocr. 60: 37-45, 1974

De Jong, F.H., Hey, A.H., van der Molen, H.J.: Oestradiol-17 β and testosterone in rat testis tissue: effect of gonadotropins, localisation and production in vitro.

J. Endocr. 60: 409-419, 1974

De Kretser, D.H., Catt, K.J., Paulsen, C.A.: Studies on the in vitro testicular binding of iodinated LH in rats.

Endocrinology 88: 332-337, 1971

De Philip, R.M., Feldman, M., Spruill, W.A., French, F.S., Kierszenbaum, A.L.: The secretion of Androgen-binding-protein and other proteins by rat Sertoli cells in culture: a structural and electrophoretic study.

Ann. New York Acad. Sci. 383: 360-371, 1982

Desjardins, C., Zeleznik, A.J., Midgley, A.R., Reichert, L.E.:
In vitro binding and autoradiographic localisation of human
chorionic gonadotropin and follicle stimulating hormone in rat
testis during development.

Current topics in Molecular Endocrinology. Eds. Dufau, M.L.,
Means, A.R. Plenum Press New York, London, 1974, Vol 1 : 221

Döhler, K., Wuttke, W.: Serum LH, FSH, Prolactin, Progesteron
from birth to puberty in female and male rats.

Endocrinology 94: 1003-1008, 1974

Donaldson, M., Saez, J., Forest, M.: Effects of the aromatase
inhibitor 1,4,6-androstatriene-3,17-dione and the anti-
oestrogen Tamoxifen on rat testicular function.

J. Steroid Biochem. 14: 823-828, 1981

Dorrington, J.H., Armstrong, D.T.: Effects of FSH on gonadal
functions.

Rec. Prog. of Horm. Res. 35: 301-342, 1979

Dorrington, J.H., Fritz, I.B., Armstrong, D.T.: Control of
testicular estrogen synthesis.

Biol. of Reprod. 18: 55-64, 1978a

Dorrington, J.H., Fritz, I.B., Armstrong, D.T.: Steroidogenesis
by Granulosa and Sertoli cells.

Endocrine approach to male contraception. Eds. Hansson, V.,
Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978
: 53 ff.

Dufau, M.L., Catt, K.J.: Gonadotropin receptors and regulation of steroidogenesis in testis and ovary .

Vitam. Horm. 36: 461-600, 1978

Dufau, M.L., Cigorruga S.B., Baukal, A.J., Bator, J.M. Sorell, S.H., Neubauer, J.F., Catt K.J.: Steroid biosynthesis lesions in gonadotropin desensitized Leydig cells.

J. Steroid Biochem. 11: 193-199, 1979

Dufau, M.L., Hsueh, A.J., Cigorruga, S., Baukal, A.J., Catt, K.J.: Inhibition of Leydig cells function through hormonal regulatory mechanism.

Endocrine approach to male contraception. Eds. Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 193 ff.

Dufau, M.L., Tsuruhara, T., Horner, K.A., Podesta, E., Catt, K.J.: Evidence for an intermediate role of cyclic AMP and protein kinase during gonadotropin action on steroidogenesis in testicular interstitial cells.

Proc. natn. Acad. Sci., USA 74: 3419-3423, 1977

Dufau, M.L., Veldhuis, J., Fraioli, F., Johnson, M.L., Catt, K.J.: Mode of bioactive LH secretion in man.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 57: 993-1000, 1983

Dufau, M.L., Winters, C., Hattori, M., Aquilano, D., Baranao, J.L.S., Nozu, K., Baukal, A., Catt, K.J.: Hormonal regulation of androgen production by the Leydig cell.

J. Steroid Biochem. 20: 161-173, 1984

Dunaif, A., Longcope, C., Canick, J., Badger, T., Crowley, W.F.: The effects of the aromatase inhibitor Δ^4 -Testolactone on gonadotropin release and steroid metabolism in polycystic ovarian disease.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 60: 773, 1985

Dym, M., Caviacchia, J.C.: Functional morphology of the testis. Biol. of Reprod. 18: 1, 1978

Epstein, B.J., Raheja, M.C., Fraw, E., Morsel, W.J.: Estrogen synthesis in normal and hypogonadal men.

Can. J. Biochem. 44: 971, 1966

Fawcett, D.W.: Interactions between Sertoli cells and Germ cells.

Male Fertility and Sterility. Eds. Mancini, R.E., Martini. Academic Press, London, New York, San Francisco, 1974 : 13-36.

Fawcett, D.W.: Ultrastructure and function of the Sertoli cell.

Handbook of Physiology, Endocrinology. Sect.7, Vol. V.

Eds.: Greep, R.O., Astwood, E.B.. Washington DC., Am. Physiol. Soc. 1975:21-55

Fishman, J., Goto, J.: Mechanism of estrogen biosynthesis I.
J. Biol. Chem. 256: 4466-4471, 1981a

Fishman, J., Raju, M.S.: Mechanism of estrogen biosynthesis II
J. Biol. Chem. 256: 4472-4477, 1981b

Forti, G., Giusti, G., Pazzagli, M., Fiorelli, G., Borelli, D., Cicchi, P., Guazzelli, R., Conti, C., Scarselli, G., Franchini, M., Boninsegni, R., Mannelli, M., Serio, M.: Spermatic and peripheral oestradiol levels in patients affected by azoospermis due to seminiferous tubular damage.
Int. J. Androl. 4: 161, 1981

Frech, F.S., Mc Lean, W.S., Smith, A.A., Tindall, D.J., Weddington, S.C., Petrusz, P., Scar, M., Stumpf, W.E., Nayfeh, S.N., Hansson, V., Trygstad, O., Ritzen, E.M.: Androgen-transport and receptormechanism in testis and epididymis.
Current topics in Molecular Endocrinology. Eds. Dufau, M.L., Means, A.R. Plenum Press New York, London, 1974, Vol 1 : 265 ff.

Fritz, I.B., Louis, B.G., Tung, P.S., Griswold, M., Rommerts, F.G., Dorrington, J.H.: Biochemical responses of cultured Sertoli cell-enriched preparations to FSH and dibutyryl c-AMP.
Current topics in Molecular Endocrinology. Eds.: French, F.S., Hansson, V., Ritzen, E.M., Nayfeh, S.N.. Plenum Press New York, London, 1975, Vol.2: 367 ff.

Fröhlich, W. : In vitro Untersuchungen zur Beeinflussung von Regulationsmechanismen in testikulären Gewebssuspensionen immaturer Ratten.

Inaugural-Dissertation FU Berlin 1980

Gore-Langton, R., Mc Keracher, H., Dorrington, J.: An alternativ method for the study of FSH-effects on aromatase activity in Sertoli cell cultures.

Endocrinology 107: 464 ff., 1980

Griswold, M.D., Huggenvik, J., Skinner, M.K., Sylvester, S.R.: The interactions of Sertoli cell glycoproteins with germinal cell.

Endocrinology, Eds. Labrie, F., Proulx, L., Excerpta Medica, Amsterdam, New York, Oxford, 1984: 619-622

Grodin, J.M., Siiteri, P.K., Mac Donald, P.C.: Source of estrogen production in postmenopausal women.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 36: 207-214, 1973

Grootegoed, J.A., Oonk, R.B., Jansen, R., van der Molen, H.J.: Sertoli cell-germ cell interactions and the hormonal control of spermatogenesis.

Endocrinology, Eds. Labrie, F., Proulx, L. Excerpta Medica, Amsterdam, New York, Oxford, 1984: 623-626

Gupta, D.: Androgens and antiandrogens in relation to human sexual maturation.

Androgens and Antiandrogens. Eds. Martini, L. Motta, M. Raven Press, New York 1977 : 295-308

Hahn, E.F., Fishman, J.: Immunological probe of estrogen biosynthesis.

J. Biol. Chem. 259: 1689-1694, 1984

Hamada, H., Neumann, F., Junkmann, K.: Intrauterine antimasculine Beeinflussung von Rattenfeteten durch ein stark gestagenwirksames Steroid.

Acta endocrin. (Kbh.) 44: 38 ff. 1963

Hammerstein, J.: Male contraception.

Androgens and Antiandrogens. Eds. Martini, L. Motta, M. Raven Press, New York 1977 : 327 ff.

Hansson, V., Djoseland, O., Reusch, E., Attramadal, A., Torgerson, O.: An androgen binding protein in the testis cytosol fraction of adult rats: Comparison with the androgen binding protein in the epididymis.

Steroids 21: 457 ff., 1973

Hansson, V., Weddington, S.C., Naess, O., Attramadal, A., French, F.S., Kotite, N., Nayfeh, S.N., Ritzen, E.M., Hagenäs, L.: Testicular androgen binding protein (ABP). A parameter of Sertoli cell secretory function.

Hormonal Regulation of Spermatogenesis. Eds.: French, F.S., Hansson, V., Ritzen, E.M., Nayfeh, S.N.. Plenum Press, New York, London, 1975: 323 ff.

Hasan, S., Kuhlmann, P., Naderi, S., Elger, W.: Feedback actions of antiandrogens, anitestrogens and aromatase inhibitors on LH and FSH secretion in male hamsters. Acta endocrin. 102, Suppl.253 : 152-153, 1983

Hemsell, D.L., Edmann, C., Marks, J., Siiteri, P.K., MacDonald, P.C.: Massive extraglandular aromatization of plasma androstendione resulting in feminization of a prepubertal boy. J. Clin. Invest. 60: 455-464, 1977

Hemsell, D.L., Grodin, M.M., Bremner, P.F., Siiteri, P.K., MacDonald, P.C.: Plasma precursors of estrogen II: Correlation of the extent of conversion of plasma androstendione to estron with age. J. Clin. Endocrin. Metabol. 38: 476 ff. , 1974

Hooker, C.W. : The intertubular tissue of the testis . The Testis, Vol I. Eds. Johnson, A.D., Gomes, W.R., Vandemark, N.L. Academic Press, New York, London, 1970 : 483-550

Hovatta, O., Koskimies, A.: Functional and structural aspects of the rat seminiferous tubules after treatment with exogenous Cyproterone acetate, testosterone, progesterone and oestradiol.

Int. J. Androl. 1 : 61-75, 1978

Hsueh, A.W., Bambino, T.H., Zhuang, L.H., Welsh, T., Ling, N.C.: Mechanism of direct action of GnRH and its antagonists on androgen biosynthesis by cultured rat testicular cells.

Endocrinology 112: 1653-1661, 1983

Hsueh, A.W., Dufau, M.L., Catt, K.J.: Direct inhibitory effect of estrogens on Leydig cell function of hypophysectomised rats.

Endocrinology 103: 1096 ff., 1977

Huhtaniemi, I.T., Rajaniemi, H., Martikainen, H., Tikkala, L.: Autoregulation of LH/hCG-receptors and catabolism of hCG in rat testis.

Endocrine approach to male contraception. Eds. Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 276-287

Huhtaniemi, I.T., Clayton, R.N., Catt, K.J.: Gonadotropin binding and Leydig cell activation in the rat testis in vivo.

Endocrinology 111: 982-987, 1982

Hung, T.T., Gibbons, W.E.: Evaluation of androgen antagonism of estrogen effect by dihydrotestosterone.

J. Steroid Biochem. 19: 1513-1520, 1983

Inano, H., Lin, Y., Dym, M.: Effects of age and 1,4,6-androstatriene-3,17-dione on activities of hCG-induced 19-Hydroxylase and aromatase of rat testis.

J. Steroid Biochem. 17: 181-184, 1982

Johnston, J.O., Wright, C.L., Metcalf, B.W.: Biochemical and endocrine properties of a mechanism-based inhibitor of aromatase.

Endocrinology 115: 776-785, 1984

Jones, T.M., Fang, V.S., Landau, R.L., Rosenfield, R.: Direct inhibition of Leydig cell function by estradiol.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 47: 1368 ff., 1978

Jost, A., Magre, S., Cressent, M.: Sertoli cells and early testicular differentiation.

Male Fertility and Sterility. Eds. Mancini, R.E., Martini. Academic Press, London, New York, San Francisco, 1974 : 1-12

Judd, H.I., Barone, R. M., Laufer, L.R., Gambone, J.C., Montfort, S.L.: In vivo effects of Δ^4 -Testolactone on peripheral aromatization.

Cancer Research 42 (Suppl.):3345s-3348s, 1982

Juneja, H.S., Motta, M., Vasconi, F., Martini, L.: Negative and positive effects of androgens on gonadotropin release. Androgens and Antiandrogens. Eds. Martini, L. Motta, M. Raven Press, New York 1977 : 127-135

Kalla, N.R., Nisula, B.C., Menard, R., Loriaux, D.L.: The effects of estradiol on testicular testosterone biosynthesis. Endocrinology 106: 35-39, 1980

Karr, J.P., Murphy, G.P.: Cellular growth and hormone receptors.

Benign Prostate Hyperplasia. Ed.: Hinmann, F. Springer Verlag New York, Heidelberg, Berlin, 1983 : 193-214

Kato, J., Ononchi, T., Okinaga, S., Ito, N.: Estrogen receptors in rat testis. Endocrinology 94: 902 ff., 1974

Klosterhalfen, H., Becker, H.: Antiandrogenic therapy of prostatic carcinoma - Clinical experience with Androcur^R/Androcur^R-Depot.

The therapy of advanced carcinoma of the prostate. Ed.: Klosterhalfen, H. Schering Ag medico-scientific book series, 1984: 63-66

Krieg, M., Voigt, K.D.: In vitro binding and metabolism of androgens in various organs: a comparative study. J. Steroid Biochem. 7: 1005-1012, 1976

Kühn-Velten, N., Staib, W.: Effect of hCG and oestradiol-binder and Cytochrome P450-concentration in rat testis.

J. Steroid Biochem. 20: 555-561, 1984

Labhsetwar, A.P.: Peripheral serum levels of immunoreactive "oestradiol" in rats during various reproductive states: adrenal contribution of immunoreactive material.

J. Endocr. 52: 3990 ff., 1972

Labrie, F., Lagacé, L., Ferland, L., Kelly, P.A., Drouin, J., Massicotte, J., Bonne, C., Raynaud, J.-P., Dorrington J.H.: Interactions between LHRH, sex steroids and "inhibin" in the control of LH and FSH secretion.

Endocrine approach to male contraception. Eds. Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 81 ff.

Lacroix, E., Eechoute, W., Leusen, I.: Testosterone metabolism by incubated rat testis after chronic LHRH-treatment.

J. Steroid Biochem. 20:633-637, 1984

Lacy, D.: Steroid metabolism by the interstitium and seminiferous tubules of the testis in vitro: studies on the rat during development and in adult in the absence of boundary tissue.

Male Fertility and Sterility. Eds. Mancini, R.E., Martini. Academic Press, London, New York, San Francisco, 1974 : 175-206

Leach, R.B., Maddock, W.O., Tokuyama, I., Paulsen, C.A.,
Nelson, W.O.: Clinical studies of testicular hormone
production.

Rec. Prog. of Horm. Res. 12:377 ff., 1956

Leinonen, P.: 17 β Oxidation of estradiol and testoserone in the
human testis.

J. Steroid Biochem. 16:277-281, 1982

Liang, T., Tymoczko, J.L., Chan, K.M.B., Hung S.C., Liao, S.:
Androgen action: receptors and rapid responses.

Androgens and Antiandrogens. Eds. Martini, L. Motta, M. Raven
Press, New York 1977 : 77-89

Lipsett, M.B.: Regulation of testicular function.

Andrologia 8, Suppl. 1: 43 ff., 1976

Lipsett, M.B.: Regulation of androgen secretion.

Androgens and Antiandrogens. Eds. Martini, L. Motta, M. Raven
Press, New York 1977 : 125 ff.

Longcope, C.: Methods and results of aromatization: Studies in
vivo.

Cancer Res. 42 (Suppl.):3307s-3311s, 1982

Longcope, C., Pratt, J.H., Schneider, S.H., Fineberg, S.E.:
Aromatization of androgens by muscle and adipose tissue in
vivo.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 46: 146-152, 1978

MacDonald, P.C., Rombaut, R.P., Siiteri, P.K.: Plasma precursors of estrogen I: Extent of conversion of plasma Δ^4 -androstendion to estrone in normale males and nonpregnant normal, castrated and adrenalectomized females.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 27: 1103 ff., 1967

Madhwa Raj, H.G., Dym, M., Sairam M.R., Dy, R.C.: Effects of selective depletion of LH and testosterone on the pituitary-gonadal axis .

Endocrine approach to male contraception. Eds. Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 184-192

Mainwaring, W.I.P.: Modes of action of antiandrogens: a survey.

Androgens and Antiandrogens. Eds. Martini, L. Motta, M. Raven Press, New York 1977 : 151 ff.

Mann, T.: Biochemical aspects of sperm maturation and survival.

Male Fertility and Sterility. Eds. Mancini, R.E., Martini. Academic Press, London, New York, San Francisco, 1974 : 89-106

Marcotte, P.A., Robinson, C.H.: Evaluation of a series of 10 β -substituted estr-4-ene-3,17-dione derivatives as inhibitors/inactivators of human placental estrogen synthetase (aromatase).

Fed. Proc. 40: 1867, 1981

Martini, L., Massa, R., Motta, M., Zanisi, M.: Recent views of the mechanisms controlling LH and FSH secretion.

Male Fertility and Sterility. Eds. Mancini, R.E., Martini. Academic Press, London, New York, San Francisco, 1974 : 359-388

Marynick, S., Loriaux, D., Sherins R.J., Pita, J.C., Lipsett, M.B.: Evidence that testosterone can suppress pituitary gonadotropin secretion independently of peripheral aromatization.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 49: 396-428, 1979

Marshall, G.R., Nieschlag, E.: Hormonal regulation of spermatogenesis in primates.

Endocrinology, Eds. Labrie, F., Proulx, L. Excerpta Medica, Amsterdam, New York, Oxford, 1984: 627-630

Mather, J.P., Morris, P.L., Perez-Infante, V., Salomon, Y.A., Nakhla, A., Gunsalus, G.L., Bardin, C.W.: Hormonal control of Sertoli cell function.

Endocrinology, Eds. Labrie, F., Proulx, L. Excerpta Medica, Amsterdam, New York, Oxford, 1984: 615-618

Matsumoto, A.M., Paulsen, C.A., Hopper, B.R., Rebar, R.W., Bremner, W.J.: HCG and testicular function: stimulation of testosterone precursors and sperm production despite high estradiol levels.

J. Clin. Endocrin. Metabol. 56: 720-728, 1983

Means, A.R.: Metabolic effects of FSH on cells of the seminiferous tubules.

Male Fertility and Sterility. Eds. Mancini, R.E., Martini. Academic Press, London, New York, San Francisco, 1974 : 405-422

Means, A.R., Dedman, J.R., Tindall, D.J., Welsh, M.J.: Hormonal regulation of Sertoli cells.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 403-423

Means, A.R., Fakunding, J.L., Huckins, C., Tindall, D.J., Vitale, R.: FSH, the Sertoli cell and spermatogenesis. Rec. Prog. Horm. Res. 32: 477-523, 1976

Means, A.R., Vaitukaitis, J.: Peptide hormone "receptors": specific binding of ^3H -FSH to testis. Endocrinology 90:39-46, 1972

Melner, M.M., Abney, T.O.: Depletion of the cytoplasmatic estrogen receptor in gonadotropin-desensitized testis. Proceedings of the 61st Annual Meeting of the Endocrine Society: 253 ff., 1979

Mendelson, C., Dufau, M.L., Catt, K.J.: Gonadotropin binding and stimulation of cAMP and testosterone production in isolated Leydig cells.

J. Biol. Chem. 250: 8818 ff., 1975

Moger, W.H.: Direct effects of estrogens on the endocrine function of the mammalian testis.

Can. J. of Physiol. Pharmacol. 58: 1011-1022, 1980

Moger, W.H., Murphy P.R.: Reevaluation of the effect of FSH on the steroidogenic capacity of the testis: the effects of neuramidase-treated FSH-preparations.

J. Biol. Reprod. 26: 422-448, 1982

Moll, G.W., Rosenfield, R.L., Helke, J.H.: Estradiol-testosterone binding interactions and free plasma estradiol under physiological conditions.

J. Clin. Endocr. Metab. 52:868-874, 1981

Moltz, L., Römmler, A., Schwartz, U., Hammerstein, J.: Effect of Cyproterone acetate on pituitary gonadotropin release and on androgen secretion before and after LH-RH double stimulation tests in man.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 :713 ff.

Mulder, E., van Beurden-Lamers, W.M.O., DeBoer, W., Brinckman, A.O., van der Molen, H.J.: Testicular estradiol receptors in the rat

Hormon Binding and Target cell activation in the Testis. Plenum Press, New York, London 1974 : 343 ff.

Musto, N.A., Gunsalus, G.L., Bardin, C.W.: Further characterization of ABP in epididymis and blood.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V., Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 424-433

Naftolin, F., Ryan, K.J., Petro, Z.: Aromatization of androstendione by the diencephalon.

J. Clin. Endocr. Metab. 33: 368 ff., 1971

Nagler, H.M., de Vere White, R., Dyrenfurth, I., Hembree, W.C.: The effect of Δ^4 -Testolactone on serum testosterone and estradiol in the adult male rat.

Fertil. Steril. 40: 818-822, 1983

Nakajin, S., Hall, P.F., Onada, M.: Testicular microsomal cytochrome P450 for C21-steroid side-chain-cleavage: spectral and binding studies of the active side.

J. Biol. Chem. 256: 6134 ff., 1981

Neaves, W.bB.: The blood-testis barrier.

The Testis, Vol 4. Eds. Johnson, A.D., Gomes, W.R. . Academic Press New York 1977: 126-162

Neri, R.O.: Studies on the biology and mechanism of action of nonsteroidal antiandrogens.

Androgens and Antiandrogens. Eds.: Martini,L., Motta,M. Raven Press, New York, 1977 :179 ff.

Neri, R.O., Florance, K., Koziol, F., van Cleave, S.: A biological profile of a non-steroidal antiandrogen Sch 1351 (4-nitro-3-trifluoromethyl-isobutyranilide).

Endocrinology 91: 427 ff., 1972

Neumann, F.: Antagonismus von Testosteron und 1,2 α -methylen-6-chlor-pregnan-4,6-dien-17 α -ol,-3,20-dion (Cyproteron) an den die Gonadotropinsekretion regulierenden Zentren bei männlichen Ratten.

Acta Endocrin. 53: 382 ff. 1966

Neumann, F.: Sexualhormone.

Physiologie des Menschen Bd 19 , Eds. Gauer, Kramer, Jung. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1977

Neumann, F.: Effects of drugs and chemicals on spermatogenesis Arch. Toxicol., Suppl. 7: 109-117, 1984

Neumann, F., Gräf, K.-J., Hasan, S.H., Schenck, B., Steinbeck, H.: Central actions of antiandrogens.

Androgens and Antiandrogens. Eds.: Martini, L., Motta, M. Raven Press, New York, 1977 : 163-177

Neumann, F., Habenicht, U.-F., Schacher, A.: Antiandrogenes and target cell response - different in vivo effects of Cyproteroneacetate, Flutamide and Cyproterone.

Regulation of Target Cell Responsiveness. Eds. McKerns, K.W; Aakvaag, A; Hansson, V. Plenum Press New York, London 1984: 489-528.

Neumann, F., Hamada, H.: Intrauterine Feminisierung männlicher Ratten durch das stark gestagen wirksame 6-Chloro- Δ^4 ,1,2-methylen,17 α -hydroxy-progesteronacetat.

Schilddrüsenhormon und Körperperipherie. 10. Symposium d. Dt. Gesellschaft f. Endocrinologie. Wien 1963. Ed.: Klein, E.. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1964: 301 ff.

Neumann, F., Nickolson, R.C., Schenck, B., Steinbeck, H.: Some comments on the use of steroid hormones for male contraception. Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 147-154

Neumann, F., Schenck, B.: Endokrinpharmakologie: Pharmakotherapie mit Hormonen.

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Eds.: Forth, Henschler, Rummel. Bibliographisches Institut - Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich, 1983: 351-400

Neumann, F., Schleusner, A., Albring, M.: Pharmacology of antiandrogens.

Androgenization in women. Lectures and discussion of a Symposium, Berlin Feb. 1979. Excerpta Medica, Amsterdam 1980 : 147-192

Neumann, F., Steinbeck, H.: Antiandrogens.

Handbook of Experimental Pharmacology. Eds.: Eichler, O., Farah, A., Herken, H., Welch, A.D.. Springer Verlag, Berlin 1974, Vol XXX V/2: 235-480.

Neumann, F., von Berswordt-Wallrabe, R.: Effects of the androgen antagonist Cyproterone acetate on the testicular structure, spermatogenesis and accessory sexual glands of testosterone treated adult hypophysectomized rat.

J. Endocr. 35: 363 ff., 1966

Nozu, K., Dufau, M.R., Catt, K.J.: Estradiol-receptor-mediated regulation of steroidogenesis in gonadotropin-desensitized Leydig cells.

J. Biol. Chem. 256: 1915-1922, 1981

Nozu, K., Matsuura, S., Catt, K.J., Dufau, M.L.: Modulation of Leydig cell androgen biosynthesis and Cytochrom P450 levels during estrogene treatment and hCG-induced desensitisation.

J. Biol. Chem. 256: 10012-10017, 1981

Numazawa, M., Osawa, Y.: Synthesis of 16 α -Bromoacetoxy-androgens and 17 β -Bromoacetyl amino-4-androstene-3-one.

Steroids 38: 149-159, 1981

Onada, M., Hall, P.F.: Inhibition of testicular microsomal Cytochrome P450 (17 α -Hydroxylase/C17,20-Lyase) by estrogens.

Endocrinology 109: 763-767, 1981

Osawa, Y.: Mechanism of aromatization.

Endocrinology, Proceedings of the 4th International Congress of Endocrinology, Washington DC. 1972. Excerpta Medica Amsterdam 1973: 814-819

Payne, A.H., Zipf, W.B.: Regulation of Leydig cell function by prolactin, growth hormone and LH.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V., Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 :329-344

Petra, P.H., Stanczyk, F.Z.: Current status of the molecular structure and function of the plasma sex-steroid-binding protein (SBP).

J. Steroid Biochem. 19:699 ff., 1983

Pizzaro, M.A., D'Agata, R., Schoysman, R.: Human testicular metabolism of Testosterone and androstendione in normal and infertile men.

J. Steroid Biochem. 12: 509-512, 1980

Pommerantz, D.K.: Effect of in vivo gonadotropin treatment on estrogen levels in the testis of immature rats.

J. Biol. Reprod. 21: 1247-1255, 1979

Prasad, M.R.N., Rajalakshmi, M., Gupta, G., Dinakar, N., Arora, R., Karkun, T.: Epididymal environment and maturation of spermatozoa.

Male Fertility and Sterility Eds.: Mancini,R.E., Martini,L. Academic Press, London, New York, San Francisco 1974 : 459-478

Purvis, K., Calandra, R., Hansson, V.: Intratesticular transport of androgens.

Androgens and Antiandrogens. Eds.: Martini,L., Motta,M. Raven

Press, New York, 1977 : 37 ff.

Purvis, K., Clausen O.P.F., Hansson, V.: Regulation of Leydig cell sensitivity and responsiveness to LH/hCG.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V., Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 247-263

Purvis,K., Clausen, O.P.F., Hansson, V.: LH-contamination may explain FSH-effects on rat Leydig cells.

J. Reprod. Fertil. 56: 657-665, 1979a

Purvis, K., Clausen, O.P.F., Hansson, V.: Androgen effects on rat Leydig cells.

J. Biol. Reprod. 20: 304-309, 1979b

Purvis, K., Cusan, L., Hansson, V.: Regulation of steroidogenesis and steroid action in Leydig cells.

J. Steroid Biochem. 15: 77-86, 1981

Purvis, K., Hansson, V.: Hormonal regulation of Leydig cell function.

Mol. Cell. Endocrinol. 12: 123-128, 1978

Quinn, P.G., Payne, A.H.: Steroid product-induced, oxygen-mediated, damage of microsomal Cytochrome P450 enzymes in Leydig cell cultures.

J. Biol. Chem. 260: 2095-2099, 1985

Raeside, J.I., Lobb, D.K.: Metabolism of androstendione by Sertoli cell-enriched preparations and purified Leydig cells from boar testis in relation to estrogen formation.

J. Steroid Biochem. 20: 1267 ff., 1984

Raynaud, J.P., Azadian-Boulanger, G., Bonne, C., Perronnet, J., Sakiz, E.: Present trends in antiandrogen research.

Androgens and Antiandrogens. Eds.: Martini, L., Motta, M. Raven Press, New York, 1977 : 281-293

Reddy, V.V.R., Naftolin, F., Ryan, K.J.: Conversion of androstendione to oestrogen by neural tissue from fetal and neonatal rats.

Endocrinology 94: 117-121, 1974

Ritzén, M.: Chemical messengers between Sertoli cells and neighbouring cells.

J. Steroid Biochem. 19: 499 ff., 1983

Robinette, C.L., McGraw, R.G., Cricco, R.P., Mawhinney, M.G.: Localisation, metabolism and binding of estrogens in the male rat.

Arch. Biochem. Biophys. 191: 517-524, 1978

Rommerts, F.F.G., Bakker, G.H., van der Molen, H.J.: The role of phosphoproteins and newly synthesized proteins in the hormonal regulation of steroidogenesis in Leydig cell.

J. Steroid Biochem. 19: 367-373

Rommerts, F.F.G., Brinckman, A.O.: Modulation of steroidogenic activities in testis Leydig cells.

Mol. Cell. Endocrinol. 21: 15-28, 1981

Rommerts, F.F.G., de Jong, F., Brinckman, A.O., van der Molen, H.J.: Development and cellular localisation of rat testicular aromatase activity.

J. Reprod. Fertil. 65: 281-288, 1982

Rommerts, F.F.G., Krüger-Sewnarian, B.C., van Woerkom-Blik, A., Grootegöed, J.A., van der Molen, H.J.: Secretion of proteins by Sertoli cell-enriched cultures: Effects of FSH, dibutytyl c-AMP and testosterone and correlation with secretion of oestradiol and androgen binding protein.

Mol. Cell. Endocrinol. 10:39-55, 1978

Rosemberg, E., Purohit, P., Crigler, J.F.: Hormonal regulation of Leydig cell function.

Male Fertility and Sterility Eds.: Mancini, R.E., Martini, L. Academic Press, London, New York, San Francisco 1974 :207-230

Rosness, P.A., Eik-Nes, K.B.: Biosynthesis of androgens.

Androgens and Antiandrogens. Eds.: Martini, L., Motta, M. Raven Press, New York, 1977 : 11 ff.

Ross, G.T., Lipsett, M.B.: Homologies of structures and functions in mammalian testis and ovaries.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 39-52

Russell, L.D.: Sertoli-germ cell interrelations: a review. Gamete Res. 3: 179-202, 1980

Saez, J.M., Haour, F., Loras, B., Sanchez, P., Cathiard, A.M. Oestrogen induced Leydig cell refractoriness to gonadotrophin stimulation. Acta Endocrin. 89: 379-392, 1978

Samojlik, E., Veldhuis, J.D., Wells, S.A., Santen, R.J.: Preservation of androgen secretion during estrogen suppressin with aminoglutethimide in the treatment of mestastatic breast carcinoma. J. Clin. Invest. 65: 602-612, 1980

Santen, R.J., Santner, S.J., Davis, B., Veldhuis, J.D., Samojlik, E., Ruby, E.: Aminoglutethimide inhibits extraglandular estrogen production in postmenopausal women with breast carcinoma. J. Clin. Endocr. Metab. 47: 1257-1265, 1978

Santner, S.J., Rosen, H., Osawa, Y., Santen, R.J.: Additive effects of aminoglutethimide, testolactone and 4-hydroxy-androstendione as inhibitors of aromatase.

J. Steroid Biochem. 20: 1239-1242, 1984

Sato, B., Spomer W., Huseby, R.A., Samuels, L.T.: The testicular estrogen receptor system in two strains of mice differing in susceptibility to estrogen-induced Leydig cell tumors.

Endocrinology 104: 822-831, 1979

Schacher, A.: Wirkungen von verschiedenen Verbindungen mit antiandrogener Eigenschaft auf die Wechselwirkung zwischen Hypothalamus, Hypophyse und Hoden.

Inaugural-Dissertation FU Berlin 1981

Schenck, B., Neumann, F.: Influence of antiandrogens on Sertoli cell function and intratesticular androgen transport.

Intern. J. Androl. 1: 459-470, 1978

Schenck, B., Neumann, F.: Some comments on the use of antiandrogens in the male contraception.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 155-161

Schirren, C.: Fertilität.

Nikotin: Pharmakologie und Toxikologie des Tabakrauches.

Ed.: Schievelbein, H.; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1968

Schirren, C.: Praktische Andrologie.

Veröffentlichung der Medizinisch-wissenschaftlichen Buchreihe
von Schering, 1982

Schreiber, J.R., Ross, G.T.: Further characterization of a rat
ovarian testosterone receptor with evidence for nuclear
translocation.

Endocrinology 99: 590 ff. 1976

Schwarzel, W.C., Kruggel, W., Brodie, H.J.: Studies of the
mechanism of estrogen biosynthesis VIII. The development of
inhibitors of the enzyme system in human placentas.

Endocrinology 92, 866-880, 1973

Schweickert, H.U.: Findings on androgen metabolism in the
woman.

Androgenization in women. Lectures and discussion of a
Symposium, Berlin Feb.1979. Excerpta Medica, Amsterdam 1980 :
40-48

Segaloff, A., Weeth, J.B., Meyer, K.K., Rongone, E.L.,
Cunningham, M.E.G.: Hormonal therapy on cancer of the breast
XIX. Effect of oral administration of Δ^1 -testolactone on the
clinical course and hormonal excretion.

Cancer 15: 633 ff, 1962

Setchell, B.P.: Testicular blood supply, lymphatic drainage and secretion of fluid,

The Testis. Vol.1. Eds.: Johnson,A.D., Gomes,W.R., Vandemark,N.L.. Academic Press, New York, London, 1970 : 101-240

Setchell, B.P.: The entry of substances into the seminiferous tubules.

Male Fertility and Sterility Eds.: Mancini,R.E., Martini,L. Academic Press, London, New York, San Francisco 1974 : 37-57

Setchell, B.P., Laurie, M.S., Main, S.J., Goats, G.C.: The mechanism of transport of testosterone through the wall of the seminiferous tubule of the rat testis.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V., Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 506-512

Sharpe, R.M., McNeilly, A.S.: Gonadotropin-induced reduction of LH-receptors and steroidigenic responsiveness of the immature rat testis.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V., Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 264-275

Sherins, R.J.: Clinical aspects of treatment of male infertility with gonadotropins: Testicular response of some men given hCG with and without Pergonal.

Male Fertility and Sterility Eds.: Mancini,R.E., Martini,L.
Academic Press, London, New York, San Francisco 1974 : 545-566

Short, R.V.: Sex determination and differentiation of the mammalian gonad.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V.,
Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978
: 21-28

Siiteri, P.K., MacDonald P. C.: Role of extraglandular estrogen in human endocrinology.

Handbook of Physiology, Sect. 7, Endocrinology Vol.II, Part 1.
Eds.: Greep, R.O., Astwood, E.B. American Physiological
Society, Washington DC.: 615 ff.

Siiteri, P.K., Thompson, E.A.: Studies of human placental aromatase.

J. Steroid Biochem. : 317-322, 1975

Smith, P.E., Engle, E.T.: Experimental evidence regarding the role of the anterior pituitary in the development and regulation of the genital system.

Am. J. Anat. 40: 159 ff. 1927

Snyder, P.J.: Clinical use of androgens.

Ann. Rev. Med. 35: 207-217, 1984

Sogani, P.C., Vagaiwala, M.R., Whitmore, W.F.: Experience with Flutamide in patients with advanced prostatic cancer without prior endocrine therapy.

Cancer 54: 744-750, 1984

Soto, A.M., Sonnenschein, C.: Estrogen receptor levels in estrogen sensitive cells in culture.

J. Steroid Biochem. 11: 1185-1190, 1979

Steinberger, A., Elkington, J.S.H., Sanborn, B.M., Steinberger, E.: Culture and FSH responses of Sertoli cells isolated from sexually mature rat testis.

Current topics in Molecular Endocrinology, Vol 2. Eds.: French, F.S., Hansson, V., Ritzen, E.M., Nayfeh, S.N.. Plenum Press New York, London 1975: 399 ff.

Steinberger, A., Thanki, K.H., Siegal, B.: FSH-binding in rat testis during maturation and following hypophysectomy. Cellular localization of FSH-receptors.

Current topics in Molecular Endocrinology, Vol.1. Eds.: Dufau, M.L., Means, A.R.. Plenum Press, New York, London 1974 a : 177-192

Steinberger, E., Smith, D.D., Tcholakian, R.K., Chowdhury, M., Steinberger, A., Ficher, M., Paulsen, C.A.: Steroidogenesis in human testis.

Male Fertility and Sterility Eds.: Mancini, R.E., Martini, L. Academic Press, London, New York, San Francisco 1974 b: 149-

Steinberger, E., Tcholakian, R.K., Steinberger, A.:
Steroidogenesis in testicular cells.

J. Steroid Biochem. 11: 185-192, 1979

Swerdloff, R.S., Palacios, A., McClure, R.D., Campfield, L.A.,
Brosman, S.A.: Male contraception: Clinical assessment of
chronic administration of testosterone enanthate.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson, V.,
Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978
: 731-747

Thieulant, M., Sion, B., de Monti, M., Duval, J.: Binding of
estradiol and 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol by the male rat
enriched gonadotrop cells.

J. Steroid Biochem. 20. 373-376, 1984

Thompson, E.A., Siiteri, P.K.: The involvment of human
placental microsomal Cytochrome P450 in aromatization.

J. Biol. Chem. 249: 5373-5378, 1974a

Thompson, E.A., Siiteri, P.K.: Utilisation of oxygen and
reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) by
human placental microsomes during aromatization of
androstendione.

J. Biol. Chem. 249: 5364-5372, 1974b

Tindall, D.J., Cunningham, G.R., Means, A.R.: Structural requirements for steroid binding to androgen binding protein. Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V., Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 434-448

Tindall, D.J., Schrader, W.T., Means, A.R.: The production of androgen binding protein by Sertoli cells.

Current topics in Molecular Endocrinology, Vol.1. Eds.: Dufau,M.L., Means,A.R..Plenum Press, New York, London 1974 : 167 ff.

Tunn, U.W., Senge, T., Jacobi, G.H.: Clinical experience with Cyproterone acetate as monotherapy in inoperable carcinoma of the prostate.

The therapy of advanced carcinoma of the prostate. Ed.: Klosterhalfen, H.. Schering Ag medico-scientific book series 1984: 67-75

Valladares, L.E., Payne, A.H.: Induction of testicular aromatization by LH in mature rats. Endocrinology 105:431-436, 1979

Van Beurden-Lamers, W.M.O., Brinckman, A.O., Mulder, E., van der Molen, H.J.: High affinity binding of oestradiol-17 β by cytosols from testis interstitiell tissue, pituitary, adrenal, liver and accessory sex glands of the male rat.

Biochem. J. 140: 495-502, 1976b

Van Beurden, W.M.O., Mulder, E., de Jong, F.H., van der Molen, H.J.: The effect of oestradiol on LH plasma levels and on testosterone production in intact and hypophysectomized rats. *Endocrinology* 101: 342-349, 1977

Van Beurden, W.M.O., Roodnat, B., de Jong, F.H., Mulder, E., van der Molen, H.J.: Hormonal regulation of LH stimulation of testosterone production in isolated Leydig cells of immature rats: The effect of hypophysectomy, FSH and estradiol-17 β . *Steroids* 28: 847-866, 1976

Van Beurden, W.M.O., Roodnat, B., van der Molen, H.J.: Effects of oestrogens and FSH on LH stimulation of steroid production by testis Leydig cells from immature rats. *Endocrine approach to male contraception*. Eds.: Hansson, V., Ritzen, E.M., Purvis, K., French, F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 374-383

Verhoeven, G., Dierickx, P., de Moor, P.: Stimulation effect of neurotransmitter on the aromatization of testosterone by Sertoli cell-enriched cultures. *Mol. Cell. Endocrinol.* 13: 241-253, 1979

Vigersky, R., Glass, A.: Effects of Δ^1 -testolactone on the pituitary-testicular axis in oligospermic men, *J. Clin. Endocr. Metab.* 52: 897-902, 1981

Vitale, R., Fawcett, D.W., Dym, M.: The normale development of the blood-testes barrier and the effects of clomiphene and estrogen treatment.

Anat. Rec. 176: 333-344, 1973

Waites, G., Gladwell, R.: Physiological significance of fluid secretion in the testis and blood-testis barrier.

Physiol. Reviews 62: 624-671, 1982

Wong, P.Y.D., Au, C.L., Ngai, H.K.: Electrolyte and water transportation in rat epididymis; its possible role in sperm maturation.

Endocrine approach to male contraception. Eds.: Hansson,V., Ritzen,E.M., Purvis,K., French,F.S.. Scriptor Copenhagen 1978 : 608-628

Worgul, T.J., Santen, R.J., Samojlik, E., Irwin, G., Falvo, R.E.: Evidence that brain aromatization regulates LH secretion in the male dog.

Am. J. Physiol. 241: E246-E250, 1981

Yamada, M., Miyaji, H., Kasai, H., Matsumoto, K.: Formation of 5 α -reduced C19-steroids from progesterone in vivo by 5 α -reduced pathway in older prepubertal rat testis.

Biochim. Biophys. Acta. 424: 82-89, 1976.

VIII. Danksagung

Bei Prof. F. Neumann möchte ich mich neben der Überlassung des Themas für die umfassende wissenschaftliche Beratung, die vielen anregenden Diskussionen und die herzliche Betreuung bedanken.

Dr. Y. Nishino danke ich für die wissenschaftliche Unterstützung und die Diskussionsbereitschaft.

Hartmut Gröning, Manfred Leydecker und Marianne Bahr gilt mein Dank für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Tierversuche.

Herrn Filz habe ich für die Hilfe bei der Zusammenstellung der Lösungen zu danken.

Bei Frau Sperling bedanke ich mich für die Fotografien und die Unterstützung beim Anfertigen der histologischen Präparate.

Gabi Borowicz und Dr. Hasan danke ich für die Hilfe bei den Hormonbestimmungen.

Prof. El Etreby, Dr. Habenicht und allen übrigen Mitarbeitern des Departments Endokrinpharmakologie II danke ich für die Hilfestellungen bei der Durchführung und Auswertung der Versuche.

Der Schering AG Berlin gilt mein Dank für die gewährte finanzielle Unterstützung.

IX. Lebenslauf

Name: Gunda Leschber

geb.: 17.9.1958 in Berlin

Eltern: Prof. Dr. Reimar Leschber (Chemiker)
Ingrid Leschber, geb. Teschke
2 Schwestern

Ausbildung: 1965-1969 Grundschule am Regenweiher (Berlin-Buckow)
1969-1977 Walter-Gropius-Schule (Berlin-Buckow)
Abitur
1977-1980 Studium der Humanmedizin,
Freie Universität Berlin
1980-1981 Faculté de Médecine de Tours
1981-1984 Freie Universität Berlin
1983-1984 Praktisches Jahr (Innere Medizin,
Chirurgie, Gynäkologie/Geburtshilfe)

Approbation 1.6.1984

16.6.1984 - 30.11.1985 Assistenzärztin im Institut für
Pathologie im Städt. Krankenhaus
Berlin-Neukölln

Jan. 1985 Foreign Medical Graduate Examination
of Medical Science (FMGEMS)

ab 1.1.1986 Assistenzärztin in Chirurgie an der
Tufts University in Boston (USA)

